

FELIPE AUGUSTO RODRIGUES MENDES

**Efeito do exercício físico na inflamação pulmonar e na
resposta imunológica sistêmica em pacientes com asma
persistente moderada ou grave**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Área de concentração: Fisiopatologia
Experimental

Orientador: Prof. Dr. Celso Ricardo Fernandes de
Carvalho

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Mendes, Felipe Augusto Rodrigues

Efeito do exercício físico na inflamação pulmonar e na resposta imunológica sistêmica em pacientes com asma persistente moderada ou grave / Felipe Augusto Rodrigues Mendes. -- São Paulo, 2013.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Fisiopatologia Experimental.

Orientador: Celso Ricardo Fernandes de Carvalho.

Descritores: 1.Aasma 2.Terapia por exercício 3.Inflamação 4.Controle clínico
5.Qualidade de vida

USP/FM/DBD-272/13

Dedicatória

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese aos meus pais, Bertolino Rodrigues Mendes e Maria de Lourdes dos Santos Mendes, aos meus irmãos Luciane Cristina Mendes Bidoia e Fabio Henrique Rodrigues Mendes. Dedico também ao meu cunhado Ricardo Bidoia e minhas lindas sobrinhas Leticia e Cecília Mendes Bidoia. Por fim dedico a todos da família Rodrigues e Santos. Não existem palavras que descrevam minha felicidade em fazer parte dessa família, verdadeira comunidade de amor e de vida. Família que me forneceu o maior e melhor laboratório que já conheci, onde foram testados e analisados os mais profundos experimentos de amor, ética, respeito, companheirismo e dedicação.

Agradecimientos

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proteger nos momentos de risco, por me iluminar nas horas difíceis, por me conceder saúde, paz, felicidade, por ser sempre meu guia e luz quando me perdi em momentos de angústia, dificuldades e indecisões e por ter mostrado que nada é impossível quando confiamos nele.

*Aos meus pais **Bertolino Rodrigues Mendes** e **Maria de Lourdes dos Santos Mendes** que me deram a vida e ensinaram a vivê-la com dignidade. A vocês, que iluminaram os caminhos obscuros com afeto e dedicação para que os trilhassem sem medo e cheios de esperanças. A vocês, que logo nos primeiros anos de minha vida passaram momentos difíceis naquele hospital. A vocês, que deram suporte a todas as minhas artes, arte com conotações duplas neste caso. A vocês, que participaram da minha vida escolar ativamente. A vocês, que se doaram inteiros e renunciaram aos seus sonhos, para que, muitas vezes, pudesse realizar os meus. A vocês, pais por natureza, por opção e amor, não bastaria dizer, que não tenho palavras para agradecer tudo isso. Mas é o que me acontece agora, quando procuro arduamente uma forma verbal de exprimir uma emoção ímpar. Uma emoção que jamais seria traduzida por palavras. Amo vocês!*

*Aos meus irmãos **Luciane Mendes Bidoia** e **Fabio Mendes**. Deus e meus pais me concederam a bênção de eu ter dois irmãos que sempre me serviram de exemplo e, indiscutivelmente, fazem parte de minha personalidade e de minhas conquistas. Sempre procurei ser como meu irmão Fabio corajoso, seguro, comunicativo, de boa conversa e bom trato com as pessoas. Além de grande generosidade me ensina muito a acreditar em meus sonhos e competências. Com minha irmã tento ter a sua fé e confiança nos propósitos de Deus que sempre*

me tranquiliza e me dá segurança nos momentos mais difíceis. Tento ter um pouco de sua polivalência como incansável mãe, esposa e profissional. Agradeço por serem meus ídolos e estarem sempre tão próximos, tê-los como irmãos é um privilégio que sempre gosto de exaltar!

*Ao meu querido avô **Sebastião Rodrigues** (In memoriam) um homem de grande dignidade, força e perseverança que criou maravilhosamente seus filhos, viu o sucesso dos netos e teve força para conhecer os bisnetos. Obrigado “vô” por estruturar a família “Rodrigues” e permitir que eu crescesse diante de tão bons exemplos.*

*A minha avó **Maria Santina dos Santos** que com muito carinho criou seus filhos e me deu uma mãe tão maravilhosa. Obrigado também pelas deliciosas comidas e por ser uma grande fonte de alegria e diversão.*

*A **Andrezza França Pinto** amiga-irmã que dividiu diariamente as bancadas do laboratório, as esteira de treinamento, as avaliações dos pacientes e participou efetivamente de todas as fases de execução deste projeto. Amiga que enfrentou e se agigantou diante de muitos problemas, alguns, aparentemente, insolúveis. Obrigado por tolerar minhas teimosias e impaciência e fazer com que nosso trabalho evoluísse conjuntamente.*

*Ao meu orientador **Prof. Dr. Celso R. F. Carvalho** que aceitou me orientar e confiou em minhas habilidades e competências para a execução do projeto. Agradeço por ter me encorajado em muitos momentos, por ter segurado minha revolta nas situações difíceis, por receber sugestões e ideias com humildade, por ser muito presente em todas as etapas de execução do projeto e repassar seu conhecimento de maneira generosa. Obrigado professor, pela persistência, pela vontade de querer me fazer uma pessoa melhor, pelo empenho e desempenho,*

pelo profissionalismo, pelo diferente, pela mudança, pelo puxões de orelha, pelo divertimento, pelo respeito, pela capacidade, pelas tentativas incansáveis de me fazer refletir, por ter sido realmente PROFESSOR. Com sua excelência, conseguiu me fazer criar, recriar, começar, recomeçar. Nunca me esquecerei de seus pensamentos diante dos que pensavam ser imutável, de seu prazer pela mudança, sua garra, de sua vontade incessante de ser PROFESSOR.

Aos Profs. Drs.(a) Rafael Stelmach, Alberto Cukier e Regina Maria de Carvalho Pinto por todo o conhecimento científico e colaboração para elaborar e executar o trabalho.

Ao Prof. Dr. Milton de Arruda Martins pela ajuda na concepção do projeto e disponibilização do laboratório de investigação médica (LIM-20) para a realização da análise do escarro induzido e óxido nítrico.

Ao Prof. Dr. Clarice Tanaka por acreditar em nosso trabalho e disponibilizar espaço para o treinamento dos pacientes.

A Dra Beatriz M. Saraiva Romanholo amiga e colega de trabalho, que deu todo o suporte no processamento e leitura das lâminas do escarro induzido, avaliação do óxido nítrico, assim como, por toda a assistência no LIM-20.

Aos profissionais do LIM-20 Clarice Rosa Olivo, Fernanda Arantes, Fernanda Lopes, Davi Francisco Ferreira, Rosana Aparecida, Édna Leick Maldonado, Francine M. Almeida colegas de trabalho que tanto me ajudaram esclarecendo dúvidas e na logística do laboratório.

Aos colegas Isadora Kieling, Santiago Oliveira, Maria Domingas de Santana, Cristiane Lopes dos Santos, Dona Aparecida Rosa de Jesus e Dona Lucia do ambulatório de Fisioterapia que deram apoio para resolver problemas

organizacionais e administrativos propiciando um atendimento de maior qualidade aos pacientes.

A todos do grupo LIFFE (laboratório de investigação em fisioterapia e fisiologia de exercício) que propiciaram um ambiente rico de discussões e de aprendizado contínuo e colaboraram com minha formação acadêmica..

Aos profissionais do Laboratório do Estudo do Movimento (Márcia, Lucia, Edna, Odete) e do ambulatório de asma do Hospital das Clínicas (Maria de Jesus) por ajudarem no atendimento, nos exames e triagem dos pacientes.

Aos profissionais do LIM-56 Prof. Dra. Maria Sato, Luanda Mara da Silva Oliveira e Soraya Oguzuko que com toda a sua capacidade de análise dos dados das citocinas nos ajudou a interpretação de nossos resultados.

Ao Laboratório de Hormônios e Genética Molecular da Disciplina de Endocrinologia, pelas dosagens de cortisol e imunoglobulina E

Aos pacientes, que depositaram sua confiança em minhas mãos, permitindo meu aprendizado e colaborando para minha formação profissional.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço a Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2009/53817-9) pelo apoio financeiro na realização desta tese

Epígrafe

Deus dá-me força pra começar minhas tarefas, perseverança pra não parar no meio, inteligência pra terminar e humildade pra ver que ficou muito bom e não me gabar.

Gilberto Nery

Normatização adotada

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo: Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*

Sumário

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1.Introdução	1
1.1 Definição e epidemiologia da asma	2
1.2 Fisiopatologia da asma e o papel das citocinas	3
1.3 Comprometimentos sistêmicos da asma e a resposta inflamatória.....	6
1.4 Efeito anti-inflamatório do exercício e o seu papel na asma	9
1.5 Benefícios clínicos do treinamento físico na asma.....	11
1.6 Hipótese	14
2.Objetivos	15
3.Métodos	17
3.1. Casuística.....	18
3.2. Delineamento Experimental	19
3.3. Programa Educacional	20
3.4. Programa de Exercícios Respiratórios.....	20
3.5. Programa de Treinamento aeróbio	21
3.6. Métodos de Avaliação	22
3.6.1 Níveis de citocinas e imunorreguladores plasmáticos:.....	22
3.6.2 Fração Exalada do Óxido Nítrico (FeNO).....	23
3.6.3 Escarro induzido	24
3.6.4 Controle clínico e exacerbações da asma:	25
3.6.5 Fatores de saúde relacionados à qualidade de vida na asma (FSRQV):.....	27
3.6.6 Teste Cardiopulmonar de esforço:.....	27
3.6.7 Função Pulmonar:.....	29
3.7 Análise Estatística	30
4.Resultados	31
4.1 Caracterização da amostra	32
4.2 Efeito do exercício nos níveis de citocinas.....	36
4.3 Efeito do treinamento nos níveis cortisol e IgE.....	40

4.4 Efeito do treinamento na FeNO.....	41
4.5 Efeito do treinamento físico na celularidade do escarro induzido.....	42
4.6 Efeito do treinamento no controle clínico da asma	44
4.7 Efeito do treinamento nos fatores relacionados à qualidade de vida (FSRQV) ...	44
4.8 Efeito do treinamento na capacidade aeróbica máxima e função pulmonar	45
5.Discussão	49
5.1 Efeito do condicionamento físico nos níveis de citocinas.....	50
5.2 Efeito agudo do exercício nos níveis de citocinas.....	52
5.3 Efeito do condicionamento físico nos níveis de cortisol e IgE	54
5.4 Efeito do condicionamento físico na inflamação pulmonar	55
5.5 Efeito do condicionamento físico no controle clínico	57
5.6 Efeito do condicionamento físico nos FSRQV	59
5.7 Limitações	60
6.Conclusão	62
8.Referências	64

Listas

Lista de abreviaturas

ACQ	<i>Asthma control questionnaire</i>
AQLQ	<i>Asthma quality of life questionnaire</i>
AVD	Atividades da vida diária
BAV	Bloqueio átrio ventricular
CVF	Capacidade vital forçada
DP	Desvio padrão
DTT	Ditiotreitól
ed.	Edição
et al.	e outros
ex.	Exemplo
FC	Frequência cardíaca
FeNO	Fração expiratória de óxido nítrico
FSRQV	Fatores de saúde relacionados à qualidade de vida
GC	Grupo controle
GNA	Grupo não asmático
GT	Grupo treinado
IgE	Imunoglobulina
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corpórea
LA	Limiar anaeróbio
LV1	Primeiro limiar ventilatório
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos
NAP-1	Proteína ativadora de neutrófilos
p.	Página
PA	Pressão arterial
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Ponto de compensação respiratória
PEF	Pico de fluxo expiratório
P _{ETC} O ₂	Pressões de CO ₂ ao final da expiração
P _{ET} O ₂	Pressão expiratória final de oxigênio
PFE	Pico de fluxo expiratório máximo

QR	Coeficiente respiratório
Rev.	Revista
T reg	Células T reguladores
TNF-alfa	Fator de necrose tecidual
v.	Volume
VC	Voluma corrente
VEF ₁	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
VO _{2max}	Capacidade aeróbica máxima
vs	Versus

Lista de símbolos

h	hora
Km/h	kilômetro por hora
Kg	kilo
FeNO	fração de óxido nítrico no ar exalado
Hz	hertz
máx	máximo
m	metro
min	minuto
mL	mlilitro
mm	milímetros
mmHg	milímetros d e mercúrio
ms	milisegundos
mV	milivolt
NO	óxido nítrico
PPB	partes por bilhão
VO ₂	capacidade aeróbia máxima
µg	micrograma
s	segundo
>	maior que
<	menor que
=	igual
%	porcentagem
±	mais ou menos

Lista de Siglas

ACMS	American College of Sports Medicine
ATS	American Thoracic Society
FAPESP	Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado De São Paulo
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
NAPA	Núcleo de Assistência e Pesquisa em Asma
SUS	Sistema Único de Saúde

Lista de Figuras

FIGURA 1 - Diagrama de seleção dos pacientes.....	33
FIGURA 2 - Efeito agudo do exercício nos indivíduos asmáticos.....	38
FIGURA 3 - Efeito agudo do exercício nos indivíduos saudáveis	39
FIGURA 4 - Efeito do treinamento físico nos níveis de cortisol e imunoglobulina E	40
FIGURA 5 - Efeito do treinamento físico na fração exalada de óxido nítrico (FeNO)	41
FIGURA 6 - Efeito do treinamento físico nos eosinófilos no escarro induzido.....	42
FIGURA 7 - Efeito do treinamento físico nos pacientes com asma parcialmente ou não controlados.....	45

Lista de Tabelas

TABELA 1 - Caracterização antropométrica, socioeconômicas e dose de medicação dos pacientes asmáticos e saudáveis antes da intervenção.....	35
TABELA 2 – Níveis de citocinas nos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção.....	37
TABELA 3 - Contagem total e diferencial da celularidade do escarro dos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção.....	43
TABELA 4 - Controle clínico e fatores relacionados à qualidade de vida dos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção.....	46
TABELA 5 - Parâmetros do teste cardiopulmonar de esforço dos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção.....	47
TABELA 6 – Função pulmonar dos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção.....	48

Resumo

RESUMO

Mendes, FAR. Efeito do exercício físico na inflamação pulmonar e na resposta imunológica sistêmica em pacientes com asma persistente moderada ou grave [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

A asma é uma doença pulmonar inflamatória crônica com alta prevalência e que leva a importantes danos funcionais à saúde e à qualidade de vida do paciente. A fisiopatologia da asma é caracterizada por intensa imunorregulação e o exercício físico pode ter um papel importante nesta resposta inflamatória devido a seus efeitos imunorreguladores. **Objetivo:** Avaliar o efeito de um programa de treinamento físico aeróbio na inflamação sistêmica e pulmonar, no controle clínico e fatores de saúde relacionados à qualidade de vida controle clínico de pacientes adultos com asma persistente moderada ou grave. **Métodos:** Foram estudados 58 adultos asmáticos divididos aleatoriamente nos grupos controle (GC; n=28) e treinado (GT; n=30) e 16 indivíduos não asmáticos (GNA). Os pacientes do GC foram submetidos a um programa educacional e a um programa de exercícios respiratórios, enquanto os pacientes do GT foram submetidos a todos os procedimentos do grupo controle e a um programa de condicionamento físico aeróbio. A resposta imune foi avaliação pelo perfil plasmático das citocinas Th1 (fator de necrose tumoral, interleucina-6 (IL-6), IL-8), Th2 (IL-4, IL-5), regulatórias (IL-10) e quimiocinas (MCP-1, IP-10, MIG, RANTES) tanto cronicamente como após uma sessão de exercício. Antes e após a intervenção todos os pacientes realizaram uma prova de função pulmonar, um teste cardiopulmonar de esforço, avaliação do controle clínico, dos fatores de saúde relacionados a qualidade de vida (FSRQV), da fração exalada de óxido nítrico (FeNO), exame de escarro induzido e coleta de amostra sanguínea. Os sujeitos do GNA realizaram apenas um teste

cardiopulmonar de esforço e a coleta de sangue. **Resultados:** Os pacientes com asma persistente moderada ou grave submetidos a um programa de condicionamento físico aeróbio apresentaram redução no plasma das interleucinas (IL) 6, IL-8 e proteína quimiotática de monócito-1 (MCP-1) ($p<0,05$). Uma única sessão de exercício eleva os níveis de IL-6, IL-8 e IL-5, para depois retornar ao seu valor basal uma hora após o exercício ($p<0,05$). A IL-10 também aumentou, porém manteve-se em níveis mais elevados mesmo uma hora após o exercício ($p<0,05$). A inflamação pulmonar reduziu apenas nos pacientes do GT com níveis elevados de eosinófilo e FeNO ($p<0,05$). Os FSRQV, controle clínico e capacidade física também melhoraram apenas no GT ($p<0,005$). **Conclusão:** Nossos resultados mostram que a melhora da capacidade física de pacientes asmáticos pode ter um efeito anti-inflamatório e que pode ser relevante para o manejo clínico destes pacientes.

Descritores: asma, terapia por exercício, inflamação, controle clínico e qualidade de vida.

Summary

SUMMARY

Mendes, FAR. Effect of exercise on pulmonary inflammation and systemic immune response in patients with moderate or severe persistent asthma [tese]. “São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2013.

Asthma is a chronic inflammatory disorder of the airway with high prevalence that leads functional impairment to health related quality of life (HRQoL). The pathophysiology of asthma is characterized by intense immunoregulation and exercise can play an important role in this inflammatory response due to its immunoregulatory effects. **Objective:** To evaluate the effect of an aerobic training program on systemic and pulmonary inflammation, clinical control and HRQoL of adult patients with moderate or severe persistent asthma. **Methods:** Fifty-eight asthmatic adult patients were randomly assigned to either control (CG, n = 28) or training groups (TG, n = 30) and 16 subjects non-asthmatic (NAG). The CG performed an educational program and breathing exercises, while the TG performed all procedures in the CG and an aerobic training program. The immune response was assessed by plasma levels of Th1 cytokines (tumor necrosis factor, interleukin-6 (IL-6), IL-8, Th2 (IL-4, IL-5), regulatory (IL-10) and chemokines (MCP-1, IP-10, MIG, RANTES), either chronically and after a single bout of exercise. Before and after the intervention all patients performed a pulmonary function test, cardiopulmonary exercise testing, clinical control test, HRQoL questionnaire, fractional exhaled nitric oxide (FeNO), induced sputum and blood sample. The NAG performed only the cardiopulmonary exercise test and plasma levels of cytokines. **Results:** Patients that performed a aerobic training program decreased plasma of interleukin (IL) 6, IL-8 and monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) ($p < 0.005$). A single bout session of exercise raises the levels of IL-6, IL-8 and IL-5, and

then return to baseline one hour after exercise ($p < 0.05$). IL-10 has also increased immediately after exercise and its levels remained higher even for one hour ($p < 0.05$). The pulmonary inflammation reduced only GT patients with high levels of eosinophils and FeNO ($p < 0.05$). The FSRQV, clinical control and physical capacity also improved only in GT ($p < 0.05$). **Conclusion:** Our results show that the improvement of the physical capacity of patients with asthma may have an anti-inflammatory effect and may be relevant for the clinical management of these patients.

Key words: asthma, exercise therapy, inflammation, clinical control and quality of life.

1. Introdução

1.1 Definição e epidemiologia da asma:

A asma é uma desordem inflamatória crônica das vias aéreas, no qual participam muitas células e elementos celulares (mastócitos, eosinófilos, linfócitos T e neutrófilos) que são responsáveis pelo aumento da responsividade brônquica frente a diversos estímulos. Os pacientes apresentam episódios recorrentes de sibilância, dispnéia, aperto no peito e tosse, principalmente à noite e pela manhã (GINA, 2011). A limitação ao fluxo aéreo é difusa, variável e, na maioria das vezes, reversível espontaneamente ou com o tratamento farmacológico. A gravidade da doença pode ser classificada em intermitente e persistente (leve, moderada e grave) considerando-se os valores do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁), o pico de fluxo expiratório máximo (PFE), frequência de exacerbações, presença de sintomatologia noturna e o grau de limitação à prática de atividade física (GINA, 2011).

Desde os anos de 1960, houve um aumento acentuado na prevalência global, morbidade, mortalidade e custos econômicos associados à asma (Masoli et al., 2004; GINA, 2011). Estima-se que, atualmente, 300 milhões de pessoas sejam afetadas pela doença com uma projeção para 400 milhões em todo o mundo até em 2025 (GINA, 2011). A doença afeta entre 1 e 18% da população em diferentes países (GINA, 2011) e, apesar de ser mais comum em países desenvolvidos (ocidentalizada), a sua prevalência está cada vez maior nos países em desenvolvimento como o Brasil. A prevalência da asma, assim como a sua morbidade, aumenta globalmente em 50% a cada década o que pode ser consequente de uma piora de sua gravidade, pior controle da doença e aumento da pobreza (Masoli et al., 2004).

Considerando-se os gastos diretos com a doença (utilização dos serviços de saúde e custos farmacêuticos) e indiretos (diminuição da produtividade e prejuízo da qualidade de vida), os custos econômicos globais associados à asma são superiores aos

da tuberculose e da HIV/AIDS combinados. Países desenvolvidos podem gastar de 1 a 2% do seu orçamento da saúde com a doença (Masoli et al., 2004). Dados brasileiros revelam que os gastos com internações por asma são de, aproximadamente, 92 milhões de reais o que corresponde a 0,8% do gasto total anual com todas as doenças (Ministério da Saúde, 2011). Anualmente, ocorrem cerca de 160 mil internações por asma no Brasil tornando-a a 4ª maior causa de internações pelo SUS e a 2ª maior causa das doenças respiratórias (1,7% do total e 12,5% daquelas por causas respiratórias) (Ministério da Saúde, 2011). Os pacientes com asma grave são responsáveis por, aproximadamente, 50% de todos os custos diretos e indiretos com a doença apesar desta população de pacientes representar apenas 10 a 20% de todos os que sofrem de asma. Em contrapartida, 70% dos pacientes que são considerados asmáticos "leve" são responsáveis por apenas 20% do custo total com a doença (Masoli et al., 2004). No Brasil, os gastos com asma grave consomem quase 25% da renda familiar dos pacientes da classe menos favorecida (Ministério da Saúde, 2011), sendo que a recomendação da Organização Mundial de Saúde é de que esse montante não exceda a 5% da renda familiar.

1.2 Fisiopatologia da asma e o papel das citocinas:

A patogênese da asma é variada e tem a participação de inúmeras células e mediadores inflamatórios dependendo do fenótipo do paciente (Truyen, 2006). Para o desenvolvimento da asma alérgica, o indivíduo tem que, inicialmente, ser sensibilizado a algum antígeno que é apresentado, inicialmente, pelas células dendríticas presentes na mucosa brônquica (Reibman et al., 2003). A interação dessas células com linfócitos T auxiliares (do inglês, *helper*) do tipo 2 (CD4-Th2) irá desencadear a produção de citocinas, sobretudo de interleucinas-4 (IL-4), IL-5 e IL-13, que caracterizam uma

resposta predominantemente humoral. (Reibman et al., 2003; Broide et al., 2005; Holgate, 2008). Após o processo de sensibilização, subseqüentes exposições alérgicas levam a um recrutamento de células inflamatórias, predominantemente CD4-Th2, eosinófilos e mastócitos para o sítio inflamatório levando à perpetuação da inflamação.

Na resposta alérgica imediata, os mastócitos recobertos por imunoglobulina (IgE) se degranulam e liberam mediadores pré-formados tais como histamina e prostaglandina que são rapidamente sintetizados. Conjuntamente, estes mediadores induzem ao broncoespasmo, aumento da permeabilidade vascular, produção de muco e recrutamento de células inflamatórias para as vias aéreas. (Stumbles et al., 1998). Este quadro alérgico se inicia imediatamente após o contato com o antígeno e dura em torno de 1 a 2 horas (Holgate, 2008). Durante a fase tardia, ocorre um processo inflamatório crônico que é iniciado pelo recrutamento de leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos e linfócitos) e ocorre entre 6 e 72 horas após a exposição antigênica.

O recrutamento e ativação desses tipos celulares para as vias aéreas de pacientes asmáticos dependem da expressão e ativação de inúmeras classes de proteínas, como citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão. As inflamações crônica e aguda das vias respiratórias observadas em asmáticos pode resultar da libertação excessiva de muitos tipos de citocinas (Fireman, 2003), dentre elas aquelas produzidas por eosinófilos que incluem a ativação de fatores de crescimento autócrinos como IL-3, IL-5, estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF); citocinas imunomoduladoras tais como IL-2, IL-4, IL-1, fatores de transformação do crescimento (TGF-beta) e interéferon gama (IFN-gama); citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF-alfa) e IL-16; e quimiocinas IL-8, proteína quimiotática de monócito-1 (MCP-1), proteína inflamatória de macrófago 1 alfa (MIP-1alfa) e fator de regulação e ativação

expressado e secretado por células T (RANTES) (Chung e Barnes, 1999; Fireman, 2003).

Do ponto de vista imunológico, a asma é caracterizada por uma resposta denominada Th2 que liberam as interleucinas 4 (IL-4), IL-5 e IL-13 (Barnes, 2008; Reibman et al., 2003). A IL-4 perpetua a ativação de mastócitos, que são responsáveis pela liberação de imunoglobulinas E (IgE) e IgG1, de induzir o recrutamento e a ativação de eosinófilos e também de estimular as células epiteliais a produzirem muco (Barnes, 2008). A IL-5 estimula a proliferação, diferenciação, sobrevivência e ativação de eosinófilos na medula óssea e também a liberação de eosinófilos maduros da medula para a circulação, além de ter papel quimioatrativo para os eosinófilos (Barnes, 2008). A IL-6 ativa a produção de citocinas Th2 em linfócitos T CD4+ (Dienz & Rincon, 2009) e tem sido identificado como o principal regulador do equilíbrio entre as células T reguladoras (Treg) e as células efectoras Th17 (Pasare & Medzhitov, 2003). Assim a IL-6, promove um ambiente pró-inflamatório em que são suprimidas as respostas de Treg e favorece o remodelamento das vias aéreas (Bettelli et al., 2006, Mangan et al., 2006., Acosta-Rodriguez et al., 2007).

As quimiocinas, nome derivado de “citocinas quimioatrativas”, são proteínas pequenas (de 8 a 10kDa) estruturalmente relacionadas e que participam da migração leucocitária (Bisset & Schmid-Grendelmeier, 2005). Na asma, as quimiocinas IL-8, proteína quimiotática de monócito-1 (MCP-1) e RANTES parecem ter um papel relevante no processo inflamatório. A IL-8 estimula a migração de neutrófilos, monócitos (Schroder et al., 1987) e eosinófilos já ativados pelas citocinas Th2 (Baines et al., 2011; Shute, 1994). A IL-8 também induz a mobilização de cálcio (Ca^{2+}), contração e migração de células musculares lisas da via aérea, o que pode contribuir para a obstrução, hiperresponsividade, e remodelamento da vias aéreas (Govindaraju et

al., 2006). A proteína MCP-1 também parece estar envolvido na cadeia de eventos inflamatórios que promove o remodelamento das vias respiratórias na asma por estimular a liberação de TGF-beta pelos macrófagos e fibroblastos (Smith et al., 1996; Hohaboan et al., 1999; Xu et al., 2002). Adicionalmente, a MCP-1 aumenta a diferenciação das células Th2 e estimula a liberação de histamina e leucotrienos nas vias aéreas de humanos (Conti et al., 2001; Gu et al., 2000).

1.3 Comprometimentos sistêmicos da asma e a resposta inflamatória

A asma há muito deixou de ser considerada como uma doença exclusivamente pulmonar e hoje é reconhecida por estar associada com vários acometimentos sistêmicos tais como: a obesidade (Castro-Rodríguez, 2007), o desbalanço do sistema nervoso autônomo (Jartti, 2001), as alterações posturais (Lunardi et al., 2011), o baixo condicionamento físico (Clark and Cochrane 1988, Villa et al., 2011), a inflamação sistêmica (Girdhar et al., 2011), os elevados níveis de ansiedade e depressão (Goldney et al., 2003) e o comprometimento das atividades de vida diária e da qualidade de vida (Juniper, 1999b). Estes efeitos sistêmicos são comuns a diversas doenças crônicas e se interagem entre si, sendo que a melhora de um componente pode ter efeitos benéficos em outros. Dentre todos estes comprometimentos destaca-se a possível relação entre sedentarismo, obesidade e inflamação sistêmica.

Existem evidências de que pacientes asmáticos apresentam uma menor *performance* ao exercício, mesmo quando clinicamente estáveis (Ludwick et al., 1986; Clark e Cochrane, 1988; Villa et al., 2011) e isto parece estar associado à gravidade da asma (Varray *et al.*, 1993; Villa et al., 2011). Além disso, estudos tem mostrado que a baixa capacidade física está associada com pior fatores de saúde relacionados a qualidade de vida (FSRQV) e elevados níveis de depressão (Mendes et al., 2013), maior

risco de exacerbação da asma (Garcia-Aymerich et al., 2009) e redução da percepção de saúde em pacientes asmáticos (Dogra et al., 2008). O modo de vida sedentário e a obesidade são, atualmente, considerado como uns dos fatores responsáveis pelo aumento da incidência de asma nas últimas 4 décadas nos países ocidentais (Lucas, 2005). Uma meta-análise sugere que a obesidade está associado há um aumento de 50% na probabilidade do diagnóstico de asma (Beuther et al., 2007). Além disso, foi descrito um efeito dose-resposta entre o aumento do IMC e o maior o risco para desenvolver asma (Beuther et al., 2007). Por outro lado, uma meta-análise, que incluiu 5 estudos somando mais de 85 mil sujeitos, mostrou que altos níveis de atividade física esta associado a uma redução de 12% no risco de desenvolver asma (Eijkemans et al., 2012). Assim, a obesidade parece anteceder e favorecer a ocorrência da asma, enquanto a atividade física tem um efeito protetor (Camargo et al., 1999; Huovinen et al., 2001 e 2003).

A associação existente entre asma, sedentarismo e obesidade é complexa e tem origens multifatoriais. Parte desta associação pode estar relacionada ao distúrbio na interação entre os processos metabólicos e imunológicos. A obesidade e o comportamento sedentário podem interagir e reunir uma combinação particular de adipocinas / miocinas que agem sinergicamente na causa de inúmeras doenças crônicas. Por exemplo, os níveis de proteína C-reativa (CRP), IL-6, IL-8, IL-10, IL-1, MCP-1 e TNF tem sido sistematicamente verificado em valores aumentados em indivíduos obesos e sedentários (Hotamisligil et al., 1993; Xu et al., 2001; Festa et al., 2001; Straczkowski et al., 2002; Hoene et al., 2008) e estão associados com o desenvolvimento de câncer (Lin e Karin, 2007), diabetes tipo 2 (Hotamisligil, 2006), doenças cardiovasculares (Haffner, 2006), depressão (Bremmer, 2007) e sarcopenia (Roubenoff, 2007). Na asma, a interação entre sedentarismo, obesidade e inflamação é

pouco compreendida, porém o fato de pacientes asmáticos terem níveis elevados de leptina (Sood et al., 2006) pode reforçar esta associação. Em modelos animais, a leptina aumenta a hiperresponsividade brônquica (Shore, 2007) e também tem importante papel na inflamação sistêmica (Steiner, 2007).

Citocinas pró-inflamatórias são fundamentais para a patogênese da asma e embora se acredite atuar localmente nas vias respiratórias, há algumas evidências de que a inflamação sistêmica também ocorre (Wood et al 2012; Fu et al., 2013). Níveis elevados de IL-6, TNF-alfa, fibrinogênio e estresse oxidativo tem sido observado em pacientes asmáticos comparados com indivíduos saudáveis (Yokoyama et al., 1995; Caramori e Papi, 2004; Higashimoto et al., 2008; Wood et al, 2012). Também tem sido observado no plasma de pacientes asmáticos o aumento das quimiocinas atrativas de eosinófilo (eotaxina), IL-8 e proteína inflamatória do macrófago (CCL3) (Daldegan et al., 2005). Interessantemente, a presença de alguns destes marcadores inflamatórios parecem estar relacionado a pior quadro clínico da asma. Kony et al., (2004) verificou que os pacientes asmáticos que tinham níveis aumentados de proteína C-reativa (PCR) possuíam VEF₁ menores e maior hiperresponsividade das vias aéreas. Já Dixon et al., (2008) e Morjaria et al., (2011) verificaram que níveis elevados de IL-6 e IL-8 no escarro de pacientes asmáticos estava associado com pior VEF₁ e controle clínico. Fu et al., (2013) verificou que os asmáticos com níveis plasmáticos elevados de PCR e IL-6 tinham maior IMC, pior função pulmonar e maior neutrofilia no escarro induzido. Silvestri et al., (2006) identificou que os pacientes com asma grave tinham níveis aumentados de TNF-alfa e IL-8. Os autores também identificaram que os níveis de IL-8 estavam diretamente associados a obstrução brônquica e que os níveis de TNF estavam associados com a fração exalada de oxido nítrico (FeNO).

1.4 Efeito anti-inflamatório do exercício e o seu papel na asma.

Vários estudos incluindo desde protocolos com exercício agudo (único teste), comparações transversais de indivíduos com diferentes níveis de atividade física e estudos longitudinais ao longo de um período de semanas ou meses têm sido usados para demonstrar o papel anti-inflamatório do exercício (Handschin e Spiegelman, 2008). Em humanos, estudos tem demonstrado sistematicamente que o exercício pode ter um importante efeito anti-inflamatório na aterosclerose, diabetes, câncer de cólon e de mama e de doenças cardíacas isquêmicas (Petersen et al., 2005).

O exercício parece ter um papel imunorregulador na inflamação mediado por inúmeras citocinas e/ou quimiocinas dentre elas: IL-1ra, IL-10, TNF-beta, IL-6, IL-8, MCP-1, proteína ativadora de neutrófilo (NAP-1), fator estimulante de colônia de granulócitos (G-CSF) (Pedersen et al., 2000, 2005 e 2009; Zieker et al., 2005) e parecem existir 4 principais mecanismos: redução da gordura abdominal, da liberação de citocinas pelos músculos (miocinas), estímulo humoral e redução da expressão dos receptores *Toll-like* (Gleeson et al., 2011). O aumento do tecido adiposo está associado com uma produção aumentada de citocinas pro-inflamatórias como IL-6, TNF e MCP-1 (Youdkin et al., 2007). O exercício pode reduzir a circunferência abdominal e levar a uma considerável redução da gordura abdominal e visceral mesmos sem a perda de qualquer peso (Ross et al., 2009) o que favorece a redução dos níveis de circulatórios destas citocinas (Ben et al., 2009; Mujundar et al., 2011). Adicionalmente, tem sido mostrado que, agudamente, o exercício eleva transitoriamente os níveis de IL-6 que parece ser responsável pelo aumento subsequentes das citocinas anti-inflamatórias IL-10 e IL1ra (Pedersen & Edward 2009). Além disso, o exercício parece ativar liberação de cortisol (Cupps & Fauci, 1982), que tem um potente efeito anti-inflamatório, e de catecolaminas que reduz a produção de citocinas pelas células imunológicas

(Bergmann et al., 1999). Por fim, a redução da expressão dos receptores *Toll-like* pode reduzir a secreção das citocinas inflamatórias e, portanto, ter um papel importante na mediação da inflamação sistêmica (Lancaster et al., 2005). Vale ressaltar, que este efeito do exercício na resposta imune parece depender da intensidade e duração do exercício. Assim, o exercício regular e moderado parece ter um efeito anti-inflamatório enquanto o exercício prolongado e de alta intensidade tem um efeito pró-inflamatório (Gleeson et al., 2007).

Na asma, o efeito anti-inflamatório do exercício tem sido muito menos explorado, porém alguns estudos observaram que a prática regular de exercício físico pode reduzir o estresse oxidativo (Onur et al., 2011), o broncoespasmo induzido pelo exercício e o uso de corticosteroides (Neder et al., 1999; Fanelli et al. 2007). Apesar destes estudos sugerirem indiretamente uma possível redução da inflamação pulmonar conhecemos apenas quatro estudos que avaliaram o efeito do treinamento físico na resposta inflamatória em pacientes asmáticos e seus resultados podem ser considerados controversos. Crianças com asma leve submetidas a um programa de treinamento aeróbio por 3 meses não tiveram redução dos níveis de FeNO, eosinófilo sanguíneo, proteína catiônica de eosinófilo e proteína C-Reativa, embora tenha havido uma redução de IgE total (Moreira et al., 2008). Também em crianças com asma leve Bonsignore et al. (2008) verificou redução da hiperresponsividade brônquica sem alteração de FeNO após 3 meses de treinamento aeróbio. Por outro lado, um estudo do nosso grupo mostrou uma redução de FeNO e porcentagem de eosinófilo no escarro após um programa de 3 meses de treinamento aeróbio em adultos com asma moderada ou grave (Mendes et al., 2011). Na mesma linha Scott et al., (2013) verificaram uma redução da inflamação eosinofílica e neutrofílica no escarro em asmáticos obesos após um programa de treinamento físico associado à dieta. Em doenças alérgicas de resposta

imunológica predominantemente Th2, como a asma, o efeito do treinamento físico na modulação da inflamação sistêmica permanece desconhecido e seu efeito anti-inflamatório tem sido mais estudado em modelos experimentais. Neste sentido, existem evidências que o exercício aeróbio reduz o número de eosinófilos, a expressão de citocinas alérgicas (IL-4, IL-5 e IL-13), a proteína quimiotática de monócito (MCP-1) e o remodelamento brônquico, além de induzir o aumento da citocina anti-inflamatória IL-10 (Pastva et al., 2004; Vieira et al., 2007; Silva et al., 2010).

1.5 Benefícios clínicos do treinamento físico na asma

Com todo o comprometimento sistêmico da asma, parece lógico a necessidade de um enfoque que vai além do tratamento clínico-medicamentoso, e envolva uma abordagem multiprofissional. Esta ideia vem de acordo com o conceito mais amplo de um programa de reabilitação pulmonar que pode ser definido como um programa multiprofissional de cuidados a pacientes com alteração respiratória crônica que engloba o estabelecimento de: 1) diagnóstico preciso da doença primária e das suas comorbidades; 2) tratamento farmacológico; 3) orientação nutricional; 4) programa educacional; 5) treinamento físico; e, 6) apoio psicossocial. Os objetivos do programa de reabilitação são melhorar FSRQV do paciente, aumentar sua capacidade física e sua independência nas atividades de vida diária (AVDs), diminuir os sintomas de desconforto respiratório e as internações e reduzir o impacto psicossocial ocasionado pela doença (Satta, 2000).

O paradigma referente ao condicionamento físico no paciente asmático começa a ser modificado devido aos achados que mostram os seus benefícios nas duas últimas décadas. Neste sentido, já foi demonstrado que mesmo em pacientes em tratamento clínico-medicamentoso otimizado, o treinamento físico melhora a capacidade aeróbia

máxima (Ram, 2009), FSRQV (Mendes et al., 2010) e o controle clínico (Dogra et al., 2011), bem como reduz os sintomas de asma (Mendes et al., 2011) e o broncoespasmo induzido pelo exercício (Fanelli et al., 2007). Apesar destas evidências, uma revisão sistemática e meta-análise recente demonstrou que os únicos efeitos concretos do treinamento físico na asma são o aumento da capacidade aeróbia máxima (VO_2 máx) e manutenção da função pulmonar (Chandratilleke et al., 2012). Devido a escassez de trabalhos e do uso de diferentes ferramentas os autores concluíram que não existem dados suficientes para realizar uma meta-análise dos efeitos do treinamento físico sobre os FSRQV e controle clínico, dois dos principais objetivos no tratamento da asma.

Os pacientes asmáticos são incomodados pelos sintomas de asma que exercem um efeito negativo sobre os FSRQV. Adicionalmente, a constante expectativa do paciente em vivenciar crises, prejudica o sono e dificulta a participação em atividades em grupo e de vida diária (Juniper, 1999a; Adams et al., 2004). Alguns estudos sugerem que os FSRQV devem ser avaliados conjuntamente com a avaliação clínica em pacientes asmáticos e que os planos de tratamento devem procurar alternativas para melhorar esse aspecto nos pacientes (Ford, 2006). Até o presente momento, temos conhecimento de apenas três estudos controlados e randomizados em adultos asmáticos que avaliaram o efeito do treinamento físico nos FSRQV (Gonçalves et al., 2008; Mendes et al., 2010, Turner et al., 2011). Turner et al. (2011) utilizaram o questionário “*asthma quality of life questionnaire*” (AQLQ) (Juniper 1999b) e verificaram uma melhora clinicamente significativa de 0,8 ponto. Mendes et al., (2010) e Gonçalves et al., (2008) utilizaram o questionário de qualidade de vida da Escola Paulista de Medicina e também observaram uma melhora nos asmáticos treinados, porém, devido a propriedade do questionário utilizado, não foi possível estabelecer uma diferença mínima clinicamente significativa.

Atualmente, outro ponto de grande relevância no tratamento da asma é o controle clínico, considerado como ponto-chave para julgar a gravidade da doença e gerir o tratamento (GINA, 2011). Apesar da importância do controle clínico, poucos estudos avaliaram o efeito do treinamento físico neste desfecho, sendo os resultados controversos dependendo da ferramenta empregada (Dogra et al., 2010, Mendes et al 2010 e 2011; Turner et al., 2011,). Dogra e colaboradores (2011) mostraram melhora do controle clínico ao utilizar o questionário ACQ-6 (ACQ-7 sem a questão de função pulmonar), porém não observaram melhora clínica utilizando o questionário completo. Turner et al., (2011) utilizaram o ACQ-7 e também não verificaram mudança no controle clínico dos pacientes asmáticos submetidos ao treinamento físico. Já Mendes et al., (2010 e 2011) que utilizaram um diário de sintomas observaram uma redução de, aproximadamente, 60% dos sintomas de asma após o treinamento aeróbio. Sendo assim, há ainda uma necessidade de mais ensaios clínicos aleatorizados e controlados com usos de ferramentas padronizadas para investigar os potenciais benefícios clínicos que o exercício regular pode ter sobre a asma, para ser capaz de dar recomendações mais específicas sobre o exercício como parte do tratamento dos asmáticos adultos.

1.6 Hipótese

Uma vez que a asma é uma doença pulmonar inflamatória crônica de intensa imunorregulação e que o exercício físico tem efeitos imunorreguladores, hipotetizamos que a melhora do condicionamento físico possa reduzir a resposta inflamatória sistêmica e pulmonar em pacientes com asma moderada ou grave. Além desta resposta anti-inflamatória, também temos como hipótese que o condicionamento físico melhora os fatores de saúde relacionados à qualidade de vida e o controle clínico.

2.Objetivos

2.1 Objetivo primário

Verificar o efeito do treinamento físico na resposta imunológica sistêmica e na inflamação pulmonar de pacientes com asma persistente moderada ou grave

2.2 Objetivos secundários

Verificar o efeito do treinamento físico no controle clínico e fatores de saúde relacionados à qualidade de vida de pacientes com asma persistente moderada ou grave

3. Métodos

3.1. Casuística

Os pacientes foram selecionados de uma população de pacientes matriculados no ambulatório de asma da Pneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, no período de junho de 2010 a dezembro de 2012. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital (protocolo nº 097/10) e, após serem informados sobre o estudo, os pacientes deram seu consentimento por escrito.

Os critérios de inclusão foram: ter idade entre 20 e 59, não obesos ($IMC < 30 \text{ Kg/m}^2$) e provenientes do Núcleo de Assistência e Pesquisa em Asma (NAPA) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os pacientes também deveriam estar sob tratamento médico-ambulatorial há, pelo menos 6 meses, com quadro clínico estável durante, pelo menos, 30 dias e em uso de terapia medicamentosa otimizada. Os pacientes não deveriam participar de outro protocolo de pesquisa, ter doença crônica pulmonar, cardiovascular ou metabólica associada, ser tabagista, ter diagnóstico de doenças psiquiátricas, ser gestante, ter doença osteomuscular que interferisse na realização das avaliações ou do treinamento e não realizar exercícios regulares. Também foram selecionados 16 sujeitos não asmáticos, funcionários e alunos do HC-FMUSP, sedentários e sem diagnóstico clínico de doenças cardíacas, respiratórias e alérgicas. A seleção destes indivíduos foi baseada nas mesmas características antropométricas (gênero, idade e IMC) dos pacientes asmáticos.

3.2. Delineamento Experimental

Foi realizado um ensaio clínico, simples cego, randomizado, controlado com grupo placebo, cuja intervenção foi o treinamento físico aeróbio. Os pacientes asmáticos que aceitaram participar e tinham os critérios previamente definidos foram divididos aleatoriamente em grupo controle e treinamento. Os pacientes do GC foram submetidos a um programa educacional e a um programa de exercícios respiratórios. Os pacientes do GT foram submetidos a todos os procedimentos do GC e a um programa de condicionamento físico aeróbio. Ao início e ao fim do programa, os pacientes realizaram espirometria, teste cardiopulmonar de esforço (ergoespirometria), bem como escarro induzido e coleta de sangue para análise posterior das citocinas plasmáticas. Além disso, todos os pacientes tiveram avaliado o controle clínico e os fatores de saúde relacionados à qualidade de vida (FSRQV). Os sujeitos não asmáticos não sofreram qualquer intervenção e realizaram a coleta de sangue para avaliação das citocinas plasmáticas e o teste cardiopulmonar de esforço.

Para amenizar o absenteísmo ao nosso programa de reabilitação, todos os pacientes foram subsidiados com relação ao custo do transporte (ônibus e/ou metrô) e receberam a medicação para asma prescrita pelos médicos. Estes recursos foram provenientes da reserva técnica do auxílio-bolsa (Processo FAPESP nº 2009/53817-9).

3.3. Programa Educacional:

Após terem passado pela triagem e aceito participar do estudo, os sujeitos foram submetidos a um programa educacional que constituiu de duas aulas, uma vez por semana, com duração total de 4 horas. O conteúdo programático abordou: higiene ambiental, controle dos sintomas por meio de diários e uso correto da medicação e do *peakflowmeter*. As aulas foram expositivas e na forma de discussão de grupo (GINA, 2011).

3.4. Programa de Exercícios Respiratórios:

Os pacientes de ambos os grupos foram submetidos ao programa de exercícios respiratórios com 24 sessões, realizada duas vezes por semana, com carga horária de 30 minutos cada, durante três meses. Cada exercício foi executado em três séries de 2 minutos intercalado com 1 minuto de descanso. Para os sujeitos do GT, as sessões de exercícios respiratórios foram sempre seguidas por sessões de treinamento aeróbio. Estes exercícios foram com a proposta de submeter os pacientes a um treinamento *sham* sem que fosse realizada uma progressão durante o período. O programa de exercícios respiratórios foi realizado com três exercícios de yoga assim descritos:

- *Kapalabhati*: rápidas expirações nasais seguidas por inspirações passivas;
- *Uddhiyana* expiração completa e prolongada seguida por esforço inspiratório com expansão da caixa torácica, mantendo a glote fechada (em apnéia). O exercício foi mantido pelo período suportado pelo paciente, para que em seguida, fosse realizada uma inspiração;
- *Agnisara*: expiração completa seguida por uma seqüência de retrações e protrusões da parede abdominal sem inspiração (em apnéia).

3.5. Programa de Treinamento aeróbio

O programa de condicionamento físico teve duração de 24 sessões (3 meses) com início ao final do programa educativo. O exercício foi realizado em esteira ergométrica (Imbramed, Brasil), 2 vezes semanais, com 35 minutos de duração. Durante o exercício foram monitorados a frequência cardíaca (FC) e o nível de percepção subjetiva ao esforço (Borg, 1982).

O treinamento aeróbio foi realizado na frequência cardíaca (FC) correspondente a dois terços da diferença entre o limiar anaeróbico e o ponto de compensação respiratória (PCR) obtido no teste cardiopulmonar de esforço. Esta intensidade de exercício foi selecionada para proporcionar um estresse cardiovascular e metabólico de alta intensidade (isto é, acima do limiar anaeróbico), mas ainda sustentável durante um período de 30 min. A intensidade de exercício foi incrementada gradualmente para atingir a intensidade preconizada ao final da segunda semana de treinamento. Caso o sujeito se mostrasse capaz de sustentar ininterruptamente a nova intensidade de treinamento por 2 sessões consecutivas sem sintomas respiratórios, a intensidade do exercício foi aumentada em 5% da FC. O paciente podia interromper a atividade caso sentisse algum sintoma ou desconforto respiratório retomando-a tão logo apresentasse melhora. Antes e após cada sessão, os pacientes foram solicitados a realizar um teste para quantificar o pico de fluxo expiratório (PFE) e puderam fazer uso de broncodilatador, quando o PFE estivesse em valores inferiores a 70% do valor máximo do paciente ou sentisse sintomas de asma antes e/ou durante o treinamento.

3.6. Métodos de Avaliação

3.6.1 Avaliação dos níveis de citocinas e imunorreguladores plasmáticos:

a) Efeito crônico do exercício nas citocinas:

O nível dos mediadores inflamatórios plasmáticos foi avaliado antes e após 3 meses de intervenção nos pacientes asmático. Antes da coleta de sangue, foi solicitado aos pacientes 8h de jejum e a não ingestão de bebidas alcoólicas e/ou cafeinadas nas 12 horas precedentes à coleta. As amostras coletadas do sangue venoso foram centrifugadas e o sobrenadante foi armazenado no freezer a -80°C até o momento do uso. Os soros foram submetidos ao ensaio de detecção pelo método *cytometric bead array* (CBA), utilizando-se os kits flex de alta sensibilidade para as interleucinas (IL) IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, fator de necrose tumoral (TNF- α) e IL-12p70 e kit de quimiocinas, monocina induzida pelo interferon (MIG/CXCL9), proteína quimiotática de monócito-1 (MCP-1/CCL2), proteína 10 induzida pelo interferon (IP-10/CXCL10) e RANTES/CCL5 (BD Biosciences, CA, USA). As amostras foram lidas no citômetro de fluxo modelo LSR Fortessa, com auxílio do programa FACSDiva™ (ambos da BD Biosciences, CA, USA) no Laboratório de investigação médica-56 (LIM-56) da Faculdade de medicina da USP. O ensaio foi realizado de acordo com o protocolo do fabricante e o limite de detecção para as interleucinas e quimiocinas foram de: IL-8/CXCL8 (0,2 picograma pg/mL), RANTES/CCL5 (1,0 pg/mL), MIG/CXCL9 (2,5 pg/mL), MCP-1/CCL2 (2,7 pg/mL), IP-10/CXCL10 (2,8 pg/mL), IL-4 (144,4 fentograma fg/mL), IL-5 (67,8f fg/mL), IL-6 (68,4 fg/mL), IL-8 (69,9 fg/mL), IL-10 (13,7 fg/mL), TNF- α (67,3 fg/mL) e IL-12p70 (12,6 fg/mL).

b) Efeito agudo do exercício nas citocinas:

Os níveis de citocinas plasmáticas também foram avaliados agudamente após uma sessão de exercício com duração de 35 minutos e intensidade correspondente a dois terços da diferença entre o limiar anaeróbico e o ponto de compensação respiratória (PCR) obtido no teste cardiopulmonar de esforço. As amostras de sangue foram colhidas em repouso e imediatamente e 1h após o exercício. Participaram desta análise aguda 13 sujeitos saudáveis e 39 pacientes asmáticos. Para esta análise aguda foram incluídas apenas as citocinas IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α e IL-12p70. Todos os procedimentos para análise das citocinas foram os mesmo descritos na sessão anterior de efeito crônico

c) Cortisol e imunoglobulina E.

Os níveis de cortisol sérico foram avaliados antes e após 3 meses de intervenção nos pacientes asmático. Foi utilizado o método de quimioluminescência (Cortisol Immulite 2000, Diagnostic Products Corporation - DPC, Los Angeles, CA, EUA), com limite de detecção de 5 μ g/dL, e avaliado no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular da Disciplina de Endocrinologia. O valor basal normal no período das 7 as 9 h da manhã é de 5,5 a 25 μ g/dL. A dosagem de imunoglobulina E (IgE) total foi realizada através do método de nefelometria no Laboratório de Bioquímica Clínica da Divisão do Laboratório central da FMUSP.

3.6.2 Avaliação da Fração Exalada do Óxido Nítrico (FeNO)

A FeNO foi mensurada em 2 ocasiões, antes e após o período de intervenção e quantificado de acordo com as normas da ATS/ERS (2005). Os pacientes foram orientados a realizar uma expiração prolongada por meio de um cachimbo e o conteúdo do ar exalado armazenado em um saco Mylar. Durante a manobra foi solicitado aos

indivíduos manter uma pressão sustentada de 12 cm de H₂O para evitar a contaminação de ar com a cavidade nasal. O ar exalado foi filtrado antes de ser coletado no saco de Mylar e a pressão expiratória realizada pelo paciente foi monitorada por um manômetro adaptado ao cachimbo. Todas as amostras colhidas foram misturadas por 5 a 10 segundos e a FeNO foi determinada pela técnica de quimioluminescência (Sievers 280), que consiste na reação do NO com ozônio. O equipamento foi calibrado antes do início de cada análise e as amostras foram analisadas no período de até 24 horas após a coleta, no Laboratório de Terapêutica Experimental (LIM-20).

3.6.3. Avaliação do escarro induzido

O escarro foi induzido pela metodologia modificada de Popov (1995). Os indivíduos foram pré-medicados com 2 *puffs* de 200µg de salbutamol e após um período de aproximadamente 15 minutos receberam inalações de salina hipertônica com concentração de 3%. Foi utilizado o nebulizador DeVilbiss (Somerset, PA, EUA) com um débito de 2,4 mL/min e com partículas de 4,5 µm. Após cada ciclo, era solicitado ao indivíduo lavar a boca com água e assoar o nariz para minimizar a contaminação do expectorado com saliva e secreção pós-nasal (Pizzichini et al., 1196). Foram utilizadas as amostras obtidas após período mínimo de 14 minutos de inalação, com tempo de procedimento não superior a 2 horas e volume de escarro coletado superior ou igual a 2 ml. Todo material obtido ao final de cada inalação foi colhido num mesmo recipiente estéril (Cai et al., 1998).

O muco obtido foi transferido para um tubo de polipropileno (15ml) utilizando-se bisturi descartável. O material mucoso foi tratado com volume de ditiotreitol (DTT) 0,1% (Sigma-Aldrich Química Brasil LTDA) igual a até 3 vezes o peso da amostra em

miligramas (Fahy et al., 1993). A solução salina foi diluída 0,1% com tampão fosfato a um pH de 7,4 (PBS). O material homogeneizado foi posto em banho-maria a 37° C por 20 minutos. Após esse período, foi centrifugado a 1800rpm durante 10 minutos em uma centrífuga Shandon III (Shandon Southern Instruments, Sewickley, PA) e o sobrenadante, aspirado e armazenado em tubos *ependorf* a temperatura de -80° C para análises posteriores (Fahy et al., 1993). A suspensão celular foi ajustada para uma concentração de $1,0 \times 10^6$ /ml. O número total de células por mililitro de escarro foi calculado por meio da câmara de Neubauer (Fahy et al., 1993). A viabilidade celular foi obtida pelo método de exclusão usando-se o corante azul de Trypan e considerando-se as células coradas em azul como mortas (Pizzichini et al., 1996). O muco foi processado pela técnica de *cytospin*, em seguida, a amostra foi analisada quanto às características celulares (contagem total do número de células e percentagem de neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, linfócitos, monócitos e mástocitos). A contagem celular foi feita em um microscópio óptico comum, em aumento de 1000x, sendo a leitura das lâminas e a contagem celular efetuada por uma bióloga de maneira cega. Este procedimento foi realizado no LIM-20 da FMUSP.

3.6.4 Avaliação do controle clínico e exacerbações da asma:

Os sintomas foram analisados por um diário previamente descrito (Mendes et al., 2010) que era preenchidos pelos pacientes e incluía perguntas acerca do surgimento de crises e sintomas (tosse, chiado, “falta de ar”, “acordar a noite” e uso de “bombinha”). Os dias livres de qualquer um dos sintomas foram avaliados, somados e considerados mensalmente (30 dias antes do treinamento, no primeiro, segundo e terceiro mês de treinamento). Visitas a uma sala de emergência e exacerbação dos sintomas de asma

também foram monitorados no diário. Exacerbação da asma foi definida como o agravamento dos sintomas de asma que requerem o uso de β_2 agonistas de curta duração ≥ 4 “puffs extra / dia por um período mínimo de 48 horas, administração de corticosteróides sistêmicos (comprimidos, ou injeções), visitas ao pronto atendimento, internações ou consultas médicas não agendadas. A frequência de exacerbações durante o tratamento, incluindo os dados de pacientes com múltiplas exacerbações, é apresentada como o número total de exacerbações dividido pelo número total de pacientes (exacerbação / número de pacientes).

Também foi utilizado o *Asthma Control Questionnaire* (ACQ) que é composto por 7 questões para determinar o controle da asma (Juniper et al., 2006). Os pacientes foram questionados a relembrar suas experiências nos últimos 7 dias e responder as primeiras 6 questões sobre despertar noturno, sintomas ao acordar, limitação para as atividades, falta de ar, chiado e uso de beta2 de curta duração e pontuá-las utilizando uma escala de 7 pontos variando de 0 a 6 (0=sem limitação e 6=limitação máxima). Na questão número 7 o escore clínico da porcentagem do VEF₁ predito pré-broncodilatador foi pontuado numa escala similar de 0 a 7 pontos. Os itens foram igualmente calculados e o escore do ACQ foi a média dos 7 itens, sendo 0 totalmente controlado e 6 gravemente descontrolado. O ACQ tem sido amplamente validado, inclusive para a língua portuguesa (Leite et al., 2008), e tem propriedade de mensuração para uso clínico e prático (Juniper et al., 1999a; Juniper et al., 2005). Considera-se que valores acima de 1,5 é igual a paciente não controlado, entre 0,75 a 1,5 parcialmente controlado e $< 0,75$ totalmente controlado (Juniper et al., 2005 e 2006). Variações de 0,5 ponto para mais ou para menos são considerados clinicamente significativos. O resultado obtido foi também avaliado utilizando a pontuação das 6 primeiras questões (ACQ-6), ou seja, sem a última questão referente a porcentagem do VEF₁ predito, como previamente descrito (Leite et al., 2008).

3.6.5 Avaliação dos fatores de saúde relacionados à qualidade de vida na asma (FSRQV):

Para avaliar os FSRQV utilizamos o questionário *Asthma Quality of Life Questionnaire* (AQLQ) (Juniper et al, 1999) que é composto por 32 questões referentes às duas últimas semanas, divididas em 4 domínios: limitação das atividades (11 itens), sintomas (12 itens), função emocional (5 itens) e estímulo ambiental (4 itens). A pontuação total em cada resposta varia entre 1 (mínimo) e 7 (máximo) pontos. A pontuação média total foi obtida pela soma da pontuação das questões dividida por 32. A pontuação média dos domínios foi analisada da mesma forma. Quanto maior a pontuação melhor a qualidade de vida. Variações de 0,5 ponto para mais ou para menos são considerados clinicamente significativos.

3.6.6 Teste Cardiopulmonar de esforço:

O teste foi realizado no Instituto de Ortopedia do HC-FMUSP, no Laboratório de Estudo do Movimento, sob a supervisão de um cardiologista. O ergômetro utilizado foi esteira ergométrica (h/p/cosmos[®], pulsar, Germany), utilizando-se o protocolo em rampa (*Heck modificado*), com velocidade fixa e incrementos de 2% na inclinação a cada minuto (Santos-Silva et al., 2007). Antes de iniciar o teste, o paciente era testado em uma das seguintes velocidades utilizadas no protocolo de rampa (2,4; 3,6; 4,8; 6,0; 6,5 e 7,2 km/h), sendo escolhida a velocidade que melhor se adequava às condições do paciente.

Os dados ventilatórios referente ao: consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{máx}}$), volume minuto (VE), produção de dióxido de carbono (VCO_2), coeficiente respiratório (QR), pressões de O_2 e CO_2 foram coletados através de um pneumotacógrafo de via

única adaptado ao paciente por meio de um bucal conectado ao capacete e analisados pelo sistema computadorizado (CPX/D, MedGraphics®, EUA). O primeiro limiar ventilatório (LV1) ou limiar anaeróbio (LA) foi determinado pela seguinte combinação de fatores: perda da linearidade entre o VCO_2 e o VO_2 , o ponto no qual o equivalente ventilatório de oxigênio (VE/VO_2), e/ou a pressão expirada final de oxigênio ($P_{ET}O_2$) atingia o seu menor valor antes de começar a aumentar durante o teste, associado ao incremento da razão de troca respiratória (RER) e salto da ventilação pulmonar, frequência respiratória e ao platô do volume corrente (Gaskill et al., 2001). O segundo limiar ventilatório (LV2), ou ponto de compensação respiratória (PCR), foi determinado pelos seguintes fatores: momento em que o equivalente ventilatório de dióxido de carbono (VE/VCO_2) atingia o nível mais baixo antes de começar a aumentar, enquanto que a pressão expirada final de dióxido de carbono ($P_{ET}CO_2$) atingia o seu valor máximo antes de diminuir. Além disso, foi considerado o salto da ventilação pulmonar (VE) e da frequência respiratória (FR), e o platô do volume corrente (VC) (Gaskill et al., 2001). A frequência cardíaca (FC) foi monitorada ao longo de todo o teste por meio de eletrocardiograma de 13 derivações (HeartWare®, 6.4, BRA). A pressão arterial (PA) foi aferida por meio de esfigmomanômetro de coluna de mercúrio antes, durante e na fase de recuperação do teste. A sensação de cansaço foi verificada pela escala de percepção subjetiva de Borg (de 6 a 20) ao final de cada estágio (Borg, 1982). Durante o transcorrer do teste houve encorajamento verbal para que os pacientes atingissem o esforço máximo (Andreacci et al., 2002). A potência do teste foi calculada para cada sujeito usando a seguinte fórmula: Potencia (Watts)= peso(Kg) x 9,81 x seno do angulo de inclinação x velocidade (metros/segundo) (Bush et al., 1988).

Os critérios de interrupção do teste incluíram: pressão arterial diastólica acima de 140 mmHg; queda sustentada da pressão arterial sistólica (PAS); PAS acima 240

mmHg; incoordenação motora; sensação de desequilíbrio; confusão mental; manifestações clínicas de desconforto respiratório que se exacerbava com o aumento da carga ou que se associava com as alterações eletrocardiográficas de isquemia; dispnéia desproporcional à intensidade de esforço; infradesnivelamento do segmento ST de 0,3 MV; supradesnivelamento do segmento ST de 0,2mV ou 2mm; arritmias ventriculares; aparecimento de taquicardia paroxística supraventricular sustentada; taquicardia atrial; fibrilação atrial; BAV de 2 e 3 graus; claudicação progressiva de membros inferiores; exaustão de membros inferiores ou exaustão física. A exaustão física foi determinada pelos seguintes critérios: 1) alcance do platô ou pico do VO_2 independente do incremento da carga de trabalho; 2) obtenção da frequência cardíaca máxima prevista; 3) coeficiente respiratório $\geq 1,10$; 4) inabilidade por parte do paciente em continuar o teste. Os indivíduos foram orientados a não ingerirem bebidas que contivessem cafeína por pelo menos 12 horas antes do teste, assim como não realizarem exercícios intensos 24 horas antes.

3.6.7. Função Pulmonar:

Todos os pacientes realizaram espirometria antes e após o período de intervenção. Durante as manobras, os pacientes foram orientados a permanecerem sentados em posição vertical, utilizando um clipe nasal. Os procedimentos técnicos, bem como os critérios de aceitabilidade e reprodutibilidade, foram àqueles recomendados pela ATS/ERS (2005). Todas as variáveis espirométricas obtidas foram comparadas aos valores de referência previamente descritos por Knudson et al., (1983). Foram avaliados os seguintes parâmetros: capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1), pico de fluxo expiratório (PFE), fluxo expiratório forçado 25-75% ($FEF_{25-75\%}$) e a relação VEF_1/CVF . O teste foi considerado aceitável quando os

pacientes realizaram três manobras consistentes com variação menor de 150 ml entre elas, em relação à CVF e ao VEF₁, sendo analisada a melhor curva. Os testes foram repetidos 15 minutos após a inalação de 400µg de salbutamol em forma de aerosol dosimetrado, utilizando-se um espaçador. A resposta ao broncodilatador foi considerada positiva mediante o incremento do VEF₁ ou da CVF em 200 mL e 12% do valor predito (ATS/ERS, 2005).

3.7 Análise Estatística

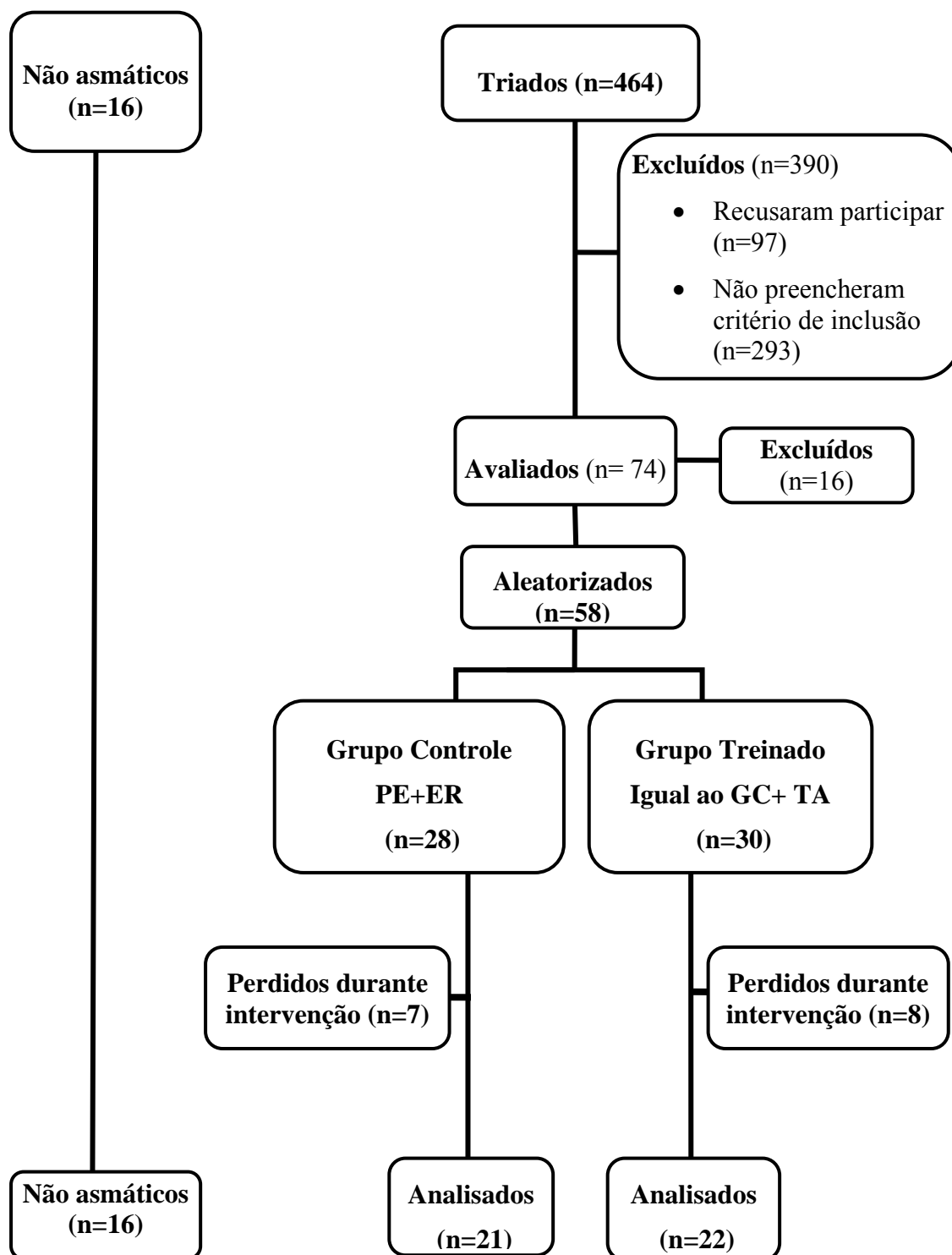
O tamanho da amostra de 40 pacientes (20 em cada grupo) foi calculado considerando uma mudança de 14% na contagem celular de eosinófilos com um desvio padrão de 22% (Mendes et al., 2011). Ao estimar uma perda de 20% baseado em estudos prévios do grupo foi proposto uma amostra inicial de 48 pacientes. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e a homocedasticidade pelo teste de Levene. Os dados com distribuição normal foram expressos em média e desvio padrão (DP). Os dados não normais foram transformados em logaritmo (log) de base 10 para a análise estatística e apresentados como média geométrica e 95% do intervalo de confiança (95%IC). Para a comparação dos dados basais entre o GC e GT foi utilizado o teste-t e qui-quadrado, respectivamente, para variáveis contínuas e categóricas. Para a comparação inter e intra-grupo dos dados iniciais e finais foi utilizado a Análise de Variância (ANOVA) de dois fatores para medidas repetidas e o teste pós hoc de Student-Newman-Keuls. O nível de significância foi ajustado para 5% ($p < 0,05$) para todos os testes e o programa Sigma Stat 3.5 foi utilizado para as análises estatísticas.

4. Resultados

4.1 Caracterização da amostra

Foram, inicialmente, triados 464 pacientes adultos com asma moderada ou grave e 74 (16,0%) foram selecionados para o estudo. Foram excluídos 390 (84%), sendo que 97 (21%) recusaram participar e 293 pacientes (63%) apresentaram algum critério de exclusão (17 por deficiência osteomuscular, 40 por realizar exercício físico regular, 12 por problemas psiquiátricos, 7 por gravidez, 93 por obesidade, 12 por instabilidade clínica, 12 por tabagismo, 44 por doenças cardiovasculares prévias, 17 por alterações metabólicas, 17 por outras doenças respiratórias associadas e 22 por outros motivos). Após as avaliações iniciais 16 pacientes foram excluídos por terem capacidade física acima da média ou por desistência. (GC). Portanto, 58 pacientes foram divididos aleatoriamente por sorteio simples em GC (n=28) e GT (n=30). Durante a intervenção, 15 pacientes foram perdidos, sendo 7 do GC e 8 do GT (por motivos de saúde não relacionados a asma, desistência, não aderência ao tratamento, problema com horário de trabalho ou familiares). Dessa forma, 43 pacientes completaram o estudo, 21 do GC e 22 GT (Figura 1). Também foram selecionados 16 sujeitos não asmáticos, funcionários e alunos do HC-FMUSP, parametrizados com as características antropométricas (gênero, idade e IMC) dos pacientes asmáticos (Figura 1).

Figura 1



Legenda: Diagrama de seleção dos pacientes (Moher et al., CONSORT, 2010). PE= programa educacional; ER= exercícios respiratórios; GC = grupo controle; GT = grupo treinado; TA = Treinamento aeróbio

No GC, 81% eram do sexo feminino, 86% possuíam nível médio ou superior, 90% tinham renda familiar maior que 2 salários mínimos e 52% tiveram a asma com início na infância. No GT, 77% dos pacientes eram do sexo feminino, 60% possuíam nível médio ou superior de ensino, 77% tinham renda familiar maior que dois salários mínimos e 77% tiveram a asma com início na infância. Não houve diferença para nenhuma dessas variáveis entre o GC e GT ($p>0,05$; Tabela 1). No início do treinamento, os 2 grupos também foram semelhantes em relação ao gênero, idade, índice de massa corpórea e dose de medicação de corticoesteróide (Tabela 1), bem como celularidade no escarro (Tabela 3) e FeNO (Figura 5). Além disto, os 2 grupos foram similares quanto aos fatores de saúde relacionados à qualidade de vida (FSRQV), controle clínico (Tabela 4), capacidade aeróbica (Tabela 5) e função pulmonar (Tabela 6). A concentração plasmática das citocinas foram semelhantes entre os grupos inicialmente, com exceção de MCP-1 que foi maior no GT (Tabela 2). Os sujeitos do GNA tiveram uma maior capacidade aeróbia máxima, menor IgE total e maior cortisol sérico ($p<0,05$; Tabela 1).

TABELA 1–Caracterização antropométrica, socioeconômicas dose de medicação dos pacientes asmáticos e saudáveis antes da intervenção

	GNA (n=16)	GC (n=21)	GT (n=22)	p
Dados Antropométricos				
Gênero (F/M)	13/3	17/4	17/5	NS
Idade (anos)	39 ((±11,3)	44 (±9,4)	40 (± 11,0)	NS
IMC (Kg.m ⁻²)	24,3 (±2,9)	26,9 (±4,3)	26,5 (±4,2)	NS
Medicação				
Budesonida (mcg.dia ⁻¹)	-----	800 (±372)	909 (±594)	NS
Beta 2 agonista de longa (mcg.dia ⁻¹)	-----	33,3 (±32,1)	26,7 (±17,7)	NS
Início da asma (infância/adulto)	-----	11/ 10	17 / 5	NS
Imunoglobulina E (Ul.mL⁻¹)	14,0 (±81,0)*	258,5 (±1423,1)	451,5 (±882,1)	<0,01
Cortisol (µg.dL⁻¹)	16,0 (±6,0)*	8,6 (±7,6)	10,0 (±7,7)	<0,01
VO₂max (mlO₂.Kg.min⁻¹)	32,1 (±6,1)*	25,4 (± 5,9)	27,2 (± 4,2)	<0,01
Dados socioeconômicos				
Escolaridade (fundamental/médio/superior)	0/ 8/ 8	3 / 14/ 4	9 / 10 / 3	NS
Renda familiar (<1/ 1 e 2 / >2 salários mínimos)	0 / 14/ 4	2 / 8 / 11	4 / 7 / 10	NS

Legenda: Os valores estão apresentados como média e desvio padrão (±DP) exceto para gênero, início da asma e dados socioeconômico que estão expressos em número absoluto e imunoglobulina E que esta como mediana. *Descrição das abreviações:* GNA = grupo não asmático; GC = Grupo Controle, GT = Grupo Treinado, IMC = índice de massa corpórea, VO₂max = consumo máximo de oxigênio; F = feminino; M = masculino; mcg = microgramas; Kg/m² = quilos por metro ao quadrado, NS = Não significantes. *p<0,05 comparado com asmáticos (ANOVA de um fator).

4.2 Efeito do exercício nos níveis de citocinas:

4.2.1 Efeito crônico:

Os valores basais dos marcadores inflamatórios foram semelhantes entre os grupos, com exceção de MCP-1 que teve valores maiores no GT ($p < 0,05$; Tabela 2). Após intervenção houve uma redução de IL-6, IL-8 e MCP-1 somente no GT ($p < 0,05$; Tabela 2). Não houve mudança de IL-5, IL-10, IP-10 e MIG em ambos os grupos ($p > 0,05$; Tabela 2). As citocinas IL-4, TNF α e RANTES ficaram fora do limite de detecção e não foram analisadas.

4.2.2 Efeito agudo:

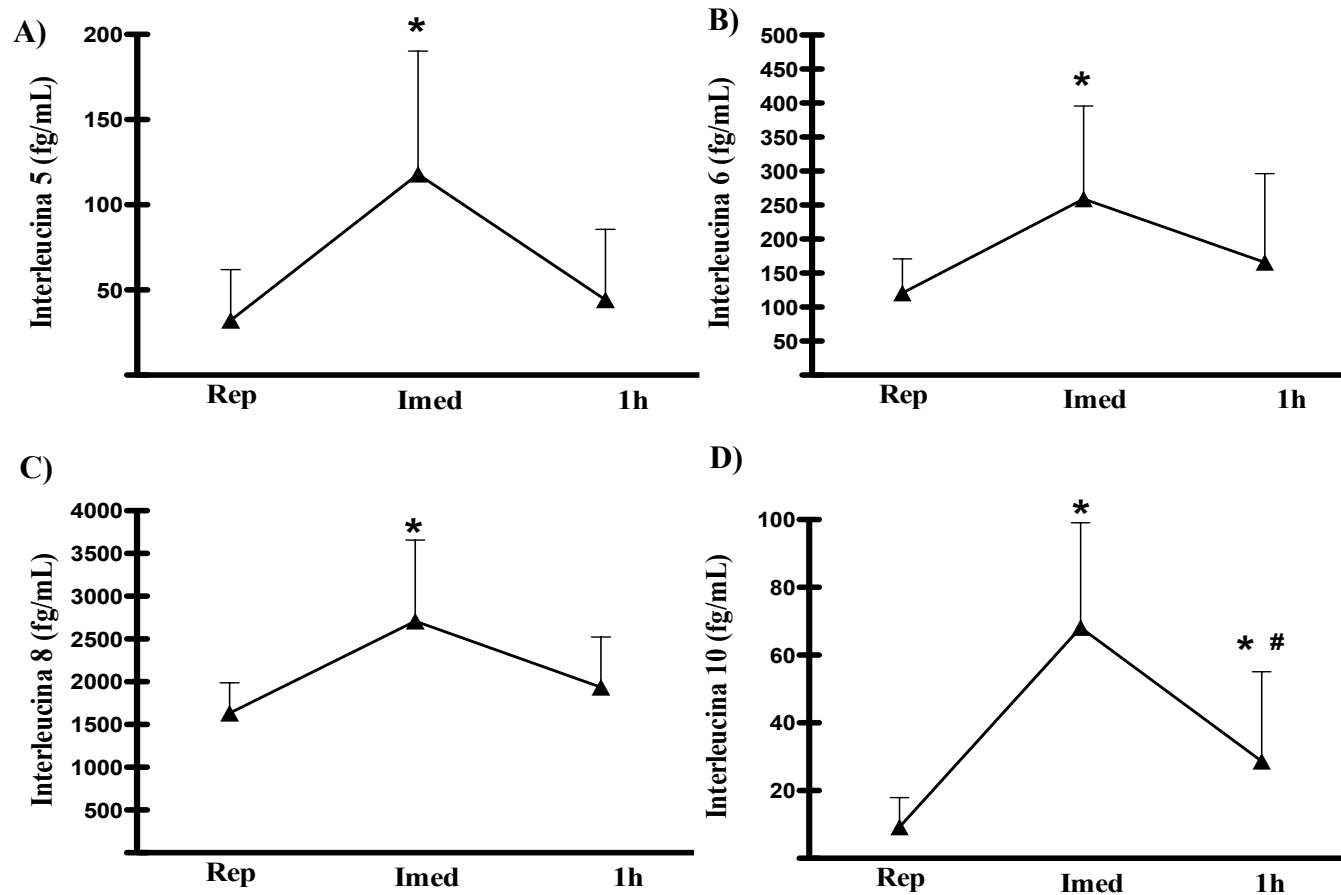
Nos pacientes asmáticos uma sessão de exercício elevou os níveis plasmáticos das interleucina IL-5, IL-6, IL-8 e IL-10 imediatamente após o exercício. Uma hora após o exercício os níveis plasmático de IL-5 e IL-6 e IL-8 retornam ao seu valor basal e os níveis de IL-10 se mantiveram elevados comparado com o repouso ($p < 0,05$; Figura 2). Para os indivíduos saudáveis o exercício agudo não alterou o nível de nenhuma interleucina ($p > 0,05$; Figura 3).

TABELA 2 – Níveis de citocinas nos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção

	Grupo Controle (n=21)		Grupo Treinado (n=22)		Valor p
	Antes	Depois	Antes	Depois	
Interleucinas (fg.mL⁻¹)					
IL-5	73,1 (28,9 - 173,4)	49,6 (19,2 - 127,9)	72,6(33,3 - 160,0)	124,6 (111,4 - 133,7)	0,82
IL-6	254,3 (119,1 - 483,1)	153,2 (94,4 - 402,7)	305,6 (234,4 - 453,9)	68,4(29,1- 203,7)*†	<0,01
IL-10	33,4 (10,4 - 93,5)	23,9 (9,7 - 80,2)	31,6 (10,8 - 81,5)	13,7 (5,1 - 47,4)	0,21
IL-8	1549,4 (1285,3 - 1782,4)	1496,1 (1330,5 -1762,0)	1541,8 (995,4 - 1803,0)	1267,8 (831,8 -1482,5)*†	<0,01
Quimiocinas (pg.mL⁻¹)					
MCP-1	9,4 (6,0 - 15,0)	9,4 (6,1 - 14,5)	21,0 (17,7 - 24,9)†	16,9 (14,3 - 20,0)*	0,04
IP-10	56,7 (45,6 - 70,5)	52,1 (38,2 - 71,3)	49,6 (45,1 - 54,5)	56,0 (50,0 - 62,7)	0,73
MIG	859,6 (618,0 - 1196,7)	858,3 (592,9 - 1244,5)	907,4 (760,3 - 1083,9)	702,6 (550,8 - 897,4)	0,63

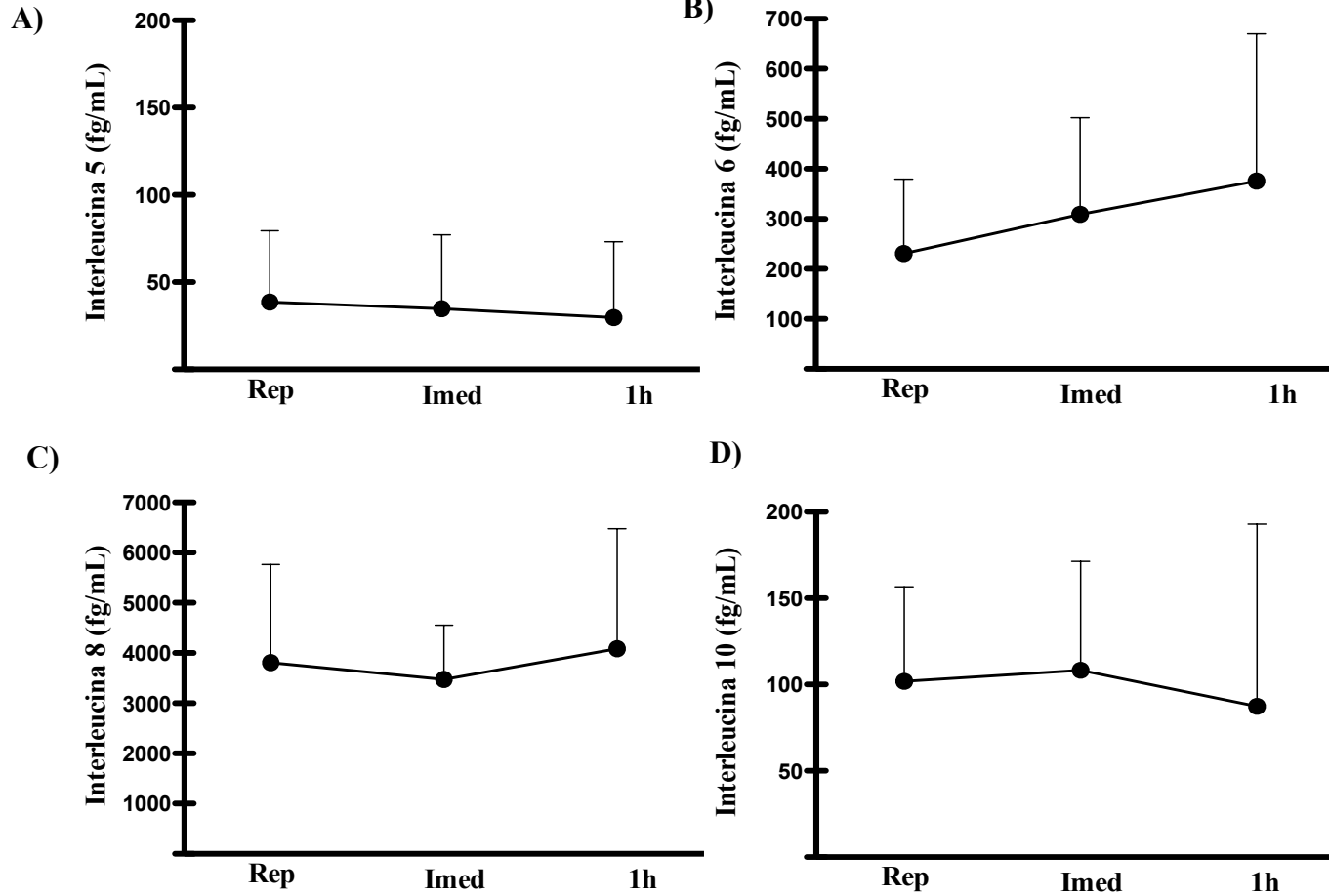
Legenda: Os valores estão apresentados como média geométrica e 95% do intercalo de confiança. *Descrição das abreviações:* IL = interleucina; MCP-1 = proteína quimiotática de monócito-1; MIG = monocina induzida pelo intérferon (IFN)- γ ; IP-10 = proteína 10 induzida pelo IFN.*p<0,05 comparado com o valor basal; †p<0,05 comparado com grupo controle. (ANOVA dois fatores para medidas repetidas)

Figura 2



Legenda: Efeito agudo do exercício nos níveis de citocinas nos indivíduos asmáticos. Os valores estão apresentados como média geométrica e 95% intervalo de confiança. (A) = IL-5; (B) = IL-6; (C) = IL-8; (D) = IL-10. *Descrição das abreviações:* Rep = repouso; Imed = imediatamente após exercício; 1h = 1 hora pós-exercício. * $p < 0,05$ comparado com o valor basal. # $p < 0,05$ comparado com imediatamente após exercício. (ANOVA de um fator para medidas repetidas)

Figura 3

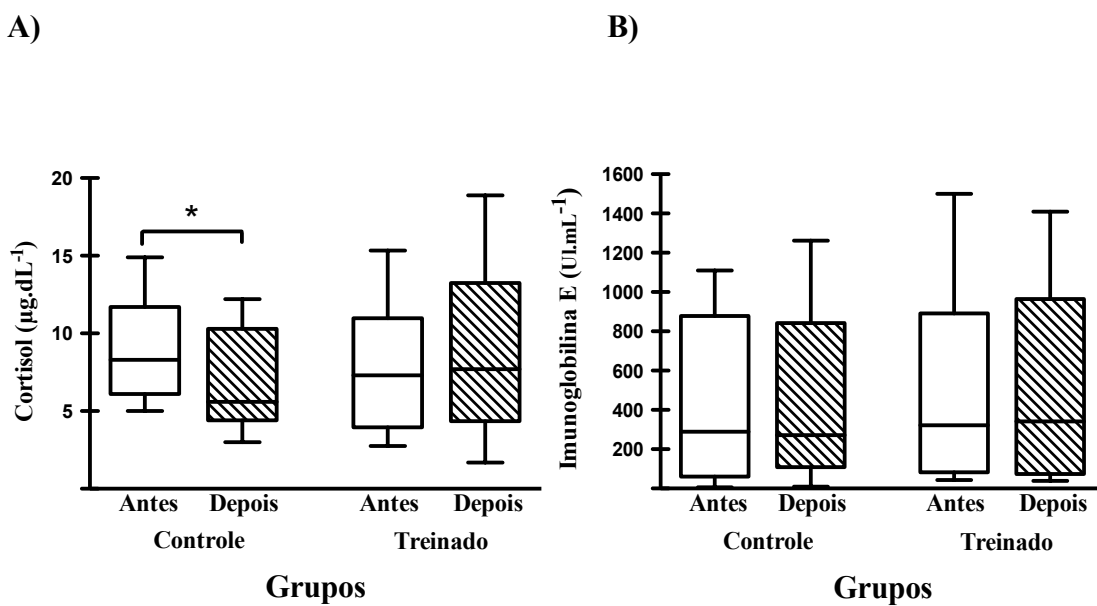


Legenda: Efeito agudo do exercício nos níveis de citocinas nos indivíduos saudáveis. Os valores estão apresentados como média geométrica e 95% intervalo de confiança. (A) = IL-5; (B) = IL-6; (C) = IL-8; (D) = IL-10. *Descrição das abreviações:* Rep = repouso; Imed = imediatamente após exercício; 1h = 1 hora pós exercício.

4.3 Efeito do treinamento nos níveis cortisol e IgE:

Os valores basais de cortisol não apresentaram diferença entre o GC e GT [10,0 ($\pm 7,7$) vs. 8,6 ($\pm 7,6$) $\mu\text{g/dL}$, $p > 0,05$, respectivamente). Após a intervenção houve uma redução no cortisol sérico nos pacientes do GC e não houve alteração no GT ($p < 0,05$; Figura 4A). Os valores basais de IgE total não apresentaram diferença entre o GC e GT tanto antes quanto após intervenção ($p > 0,05$; Figura 4B).

Figura 4

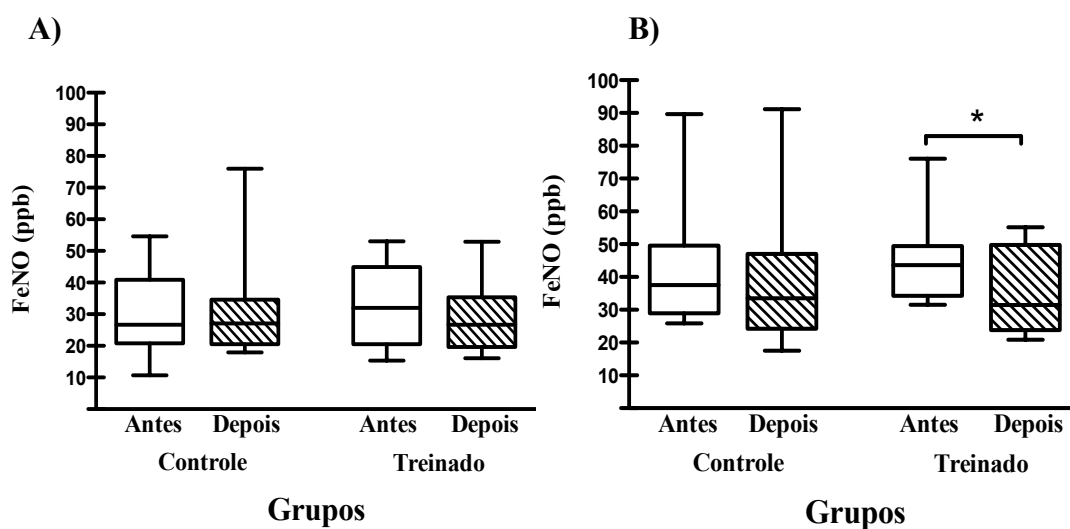


Legenda: Efeito do treinamento físico: (A) = Cortisol; (B)= Imunoglobulina E; * $p < 0,05$. ANOVA de dois fatores para medidas repetidas. As caixas representam 25 e 75 percentis, a linha dentro das caixas representa a mediana, e as barras representam os percentis 10 e 90.

4.4 Efeito do treinamento na fração exalada de óxido nítrico (FeNO):

Antes do treinamento, os pacientes apresentaram níveis medianos de FeNO igual a 26,5 ($\pm 13,8$) ppb e após intervenção não houve melhora dos níveis de FeNO em ambos os grupos ($p \geq 0,05$; Figura 5A;). Ao fazer a análise apenas com os pacientes que tinham os níveis mais elevados de FeNO ($\geq 26,0$ ppb) houve uma melhora somente no GT ($p=0,01$; Figura 5B;). Participaram desta análise secundária 24 pacientes (GC=12 e GT=12). O GC não apresentou qualquer mudança depois do treinamento ($p > 0,05$; Figura 3A e B;)

Figura 5

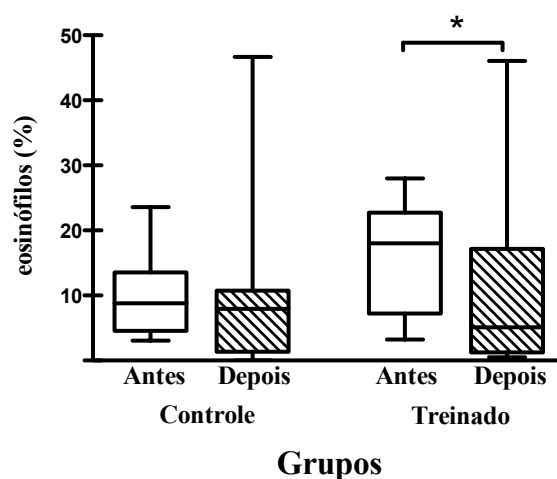


Legenda: Efeito do treinamento físico na fração exalada de óxido nítrico (FeNO): (A) = Todos os pacientes; (B) Pacientes com FeNO > 26 ppb (GC n=12; GT n=12); * $p < 0,05$ ANOVA de dois fatores para medidas repetidas. As caixas representam 25 e 75 percentis, a linha dentro das caixas representa a mediana, e as barras representam os percentis 10 e 90.

4.5 Efeito do treinamento físico na celularidade do escarro induzido:

A contagem total e diferencial das células (eosinófilos, macrófagos, neutrófilos e linfócitos) dos pacientes foi similar entre os grupos antes do treinamento ($p>0,05$; Tabela 5). Nenhuma diferença foi observada na contagem total e diferencial de células após a intervenção ($p>0,05$; Tabela 5). Quando avaliado apenas os pacientes com maior inflamação eosinofílica ($>3\%$) houve uma redução dos eosinófilos apenas no GT ($p=0,02$; Figura 6). Participaram desta análise 9 pacientes do GC e 13 do GT.

Figura 6



Legenda: Efeito do treinamento físico na porcentagem de eosinófilos no escarro induzido nos pacientes com eosinofilia $> 3\%$ (GC n=9, GT n=13). * $p<0,05$ ANOVA de dois fatores para medidas repetidas. As caixas representam 25 e 75 percentis, a linha dentro das caixas representa a mediana, e as barras representam os percentis 10 e 90.

TABELA 3 – Contagem total e diferencial da celularidade do escarro dos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção

Celularidade no escarro	Grupo Controle (n=21)		Grupo Treinado (n=22)		Valo p
	Antes	Depois	Antes	Depois	
Contagem total células ($10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$)	0,88 ($\pm 1,71$)	1,13 ($\pm 2,51$)	0,78 ($\pm 1,48$)	0,74 ($\pm 0,99$)	0,10
Contagem diferencial de células (%)					
Eosinófilos	4,74 ($\pm 8,9$)	8,7 ($\pm 23,2$)	10,2 ($\pm 12,2$)	4,5 ($\pm 18,6$)	0,22
Neutrófilos	39,5 ($\pm 26,4$)	38,9 ($\pm 26,3$)	37,4 ($\pm 23,9$)	35,6 ($\pm 22,0$)	0,86
Linfócitos	0,0 ($\pm 8,0$)	0,0 ($\pm 2,6$)	0,0 ($\pm 1,7$)	0,47 ($\pm 3,1$)	0,32
Macrófagos	44,8 ($\pm 31,9$)	39,43 ($\pm 25,5$)	43,4 ($\pm 23,8$)	47,3 ($\pm 27,3$)	0,53

Legenda: Os valores estão apresentados como mediana e desvio padrão (DP).

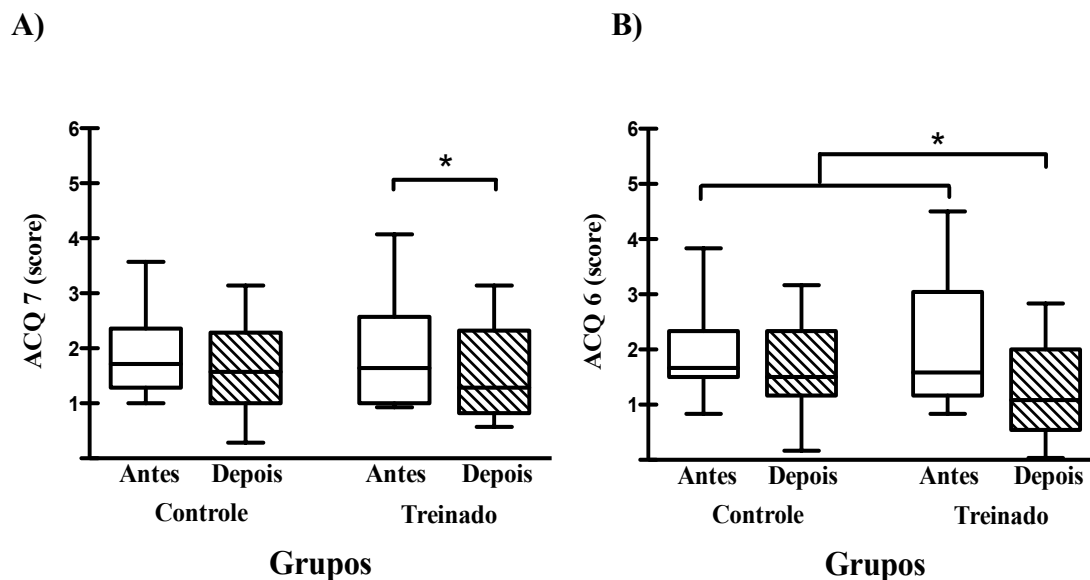
4.6 Efeito do treinamento no controle clínico da asma

Os números de dias livres de sintomas antes da intervenção foram semelhantes entre os grupos e após a intervenção apenas os pacientes do GT tiveram uma melhora dos sintomas ($p=0,02$; Tabela 4). A frequência de exacerbações durante o tratamento também foi menor no GT comparado ao GC (0,6 vs 1,5 exacerbações/paciente, respectivamente; $p=0,02$). De acordo com a classificação do ACQ-7 no início do estudo 12 pacientes tinham asma totalmente controlada (GT $n=8$, GC $n=4$), 12 parcialmente controlada (GT $n=6$, GC $n=6$) e 19 não controlada (GT $n=8$, GC $n=11$). Não houve melhora do controle clínico avaliado pelo questionário ACQ-7 e ACQ-6 em ambos os grupos quando avaliados todos os pacientes conjuntamente ($p>0,05$; Tabela 4). Ao fazer a análise apenas com os pacientes que tinham asma parcialmente controlada ou não controlada (pontuação ACQ $\geq 0,75$) houve uma melhora somente no GT ($p<0,01$; Figura 7A e 7B). Participaram desta análise secundária 14 pacientes do GT e 17 do GC. Os pacientes do GC não apresentaram mudanças.

4.7 Efeito do treinamento nos fatores relacionados à qualidade de vida (FSRQV)

Verificou-se que, após o treinamento, os pacientes do GT apresentaram melhora nos domínios limitações de atividades, função emocional bem como do escore total do questionário de qualidade de vida ($p>0,05$; Tabela 4), porém não foi observada alteração no domínio estímulo ambiental ($p>0,05$) e houve uma tendência de melhora no domínio sintomas ($p=0,07$; Tabela 5). Os pacientes do GC não apresentaram mudanças em nenhum domínio e nem na pontuação total do questionário. Quinze pacientes do GT (68%) apresentaram um aumento na pontuação no escore total do AQLQ superior a 0,5 ponto, considerado como melhora clinicamente significativa.

Figura 7



Legenda: Efeito do treinamento físico nos pacientes com asma parcialmente ou não controlados (GC n=17, GT n=14). (A) = ACQ-7; (B) ACQ-6. *Descrição das abreviações:* ACQ = *Asthma control questionnaire*. * $p < 0,05$ ANOVA de dois fatores para medidas repetidas. As caixas representam 25 e 75 percentis, a linha dentro das caixas representa a mediana, e as barras representam os percentis 5 e 95.

4.8 Efeito do treinamento na capacidade aeróbica máxima e função pulmonar

Após 3 meses de intervenção, somente os pacientes do GT mostraram um aumento do VO_2 e da potência aeróbica no ponto de compensação respiratório e na capacidade máxima ($p < 0,05$; Tabela 5). Não foi observada modificação nas outras medidas de capacidade física e da função pulmonar nos 2 grupos após o período de treinamento ($p > 0,05$; Tabela 5 e 6).

TABELA 4 – Controle clínico e fatores relacionados à qualidade de vida dos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção.

Variáveis	Grupo Controle (n=21)		Grupo Treinado (n=22)		Valor p
	Antes	Depois	Antes	Depois	
Controle Clínico					
Dias livres de sintomas	15,3 (± 11,0)	16,3 (± 11,7)	12,0 (± 11,2)	16,3 (± 12,1) *	0,02
ACQ-7	1,6 (±0,9)	1,4 (±0,9)	1,4 (± 1,2)	1,2 (± 0,8)	0,29
ACQ-6	1,5 (±1)	1,3 (±1)	1,2 (± 1,2)	1,0 (± 0,8)	0,12
Domínios do AQLQ					
Limitações de atividades	3,8 (± 0,9)	4,0 (± 1,3)	4,3 (± 1,3)	5,1 (±1,2) †*	<0,001
Frequência Sintomas	4,8 (± 1,5)	5,0 (± 1,4)	5,1 (± 1,5)	5,6 (±1,1)	0,07
Função emocional	4,1 (± 1,9)	4,6 (±1,8)	4,6 (± 1,8)	5,56 (±1,6) †*	0,03
Estímulos ambientais	3,7 (± 1,8)	4,2 (± 2,0)	4,5 (± 2,0)	5,1 (± 1,7)	0,98
AQLQ Total	4,2 (± 1,1)	4,5 (± 1,3)	4,6 (± 1,4)	5,4 (± 1,2) †*	<0,001

Legenda: Os valores estão apresentados como média e desvio padrão (DP). *Descrição das abreviações:* ACQ = *Asthma control questionnaire*; AQLQ= *Asthma quality of life questionnaire*. *p<0,05 comparado com o valor basal; †p<0,05 comparado com grupo controle. (ANOVA dois fatores para medidas repetidas)

TABELA 5 – Parâmetros do teste cardiopulmonar de esforço dos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção.

	Grupo Controle (n=21)		Grupo Treinado (n=22)		Valor p
	Antes	Depois	Antes	Depois	
Máximo					
VO ₂ (mLO ₂ .Kg.min ⁻¹)	25,4 (± 5,9)	24,4 (± 5,3)	27,2 (± 4,2)	28,9 (± 5,0)* [†]	<0,01
VO ₂ /FC (ml.min.bpm ⁻¹)	10,1 (± 3,3)	9,7 (± 3,1)	9,9 (± 1,8)	10,3 (± 1,7)	0,87
Potência (watts)	202,8 (± 67,3)	214,4 (± 65,4)	190,3 (± 32,3)	250,1 (± 44,9)* [†]	<0,01
PCR					
VO ₂ (mLO ₂ .Kg.min ⁻¹)	21,0 (± 3,8)	19,5 (± 4,2)	22,6 (± 3,6)	23,8 (± 4,4) [†]	<0,01
VO ₂ (% VO ₂ máximo)	83,0 (± 8,7)	80,0 (± 8,6)	83,0 (± 5,1)	82,5 (± 8,4)	0,40
VO ₂ /FC (ml.min.bpm ⁻¹)	9,3 (± 2,7)	8,8 (± 2,6)	9,1 (± 1,7)	9,5 (± 1,6)	0,07
Potência (watts)	124,8 (± 50,1)	116,9 (± 59,7)	115,5 (± 32,1)	153,0 (± 48,7)* [†]	<0,01
LA					
VO ₂ (mLO ₂ .Kg.min ⁻¹)	17,8 (± 3,9)	15,4 (± 3,0)	18,7 (± 3,1)	19,4 (± 4,0) [†]	<0,01
VO ₂ (% VO ₂ máximo)	70,0 (± 9,2)	64,3 (± 7,2)	69,2 (± 7,2)	67,2 (± 9,0)	0,33
VO ₂ /FC (ml.min.bpm ⁻¹)	8,7 (± 2,9)	8,6 (± 2,4)	8,5 (± 1,8)	9,0 (± 1,7)	0,05
Potência (watts)	76,2 (± 33,6)	67,2 (± 43,5)	65,5 (± 32,3)	62,5 (± 41,6)	0,67

Legenda: Os valores estão apresentados como média e desvio padrão (DP). *Descrição das abreviações:* VO₂= consumo de Oxigênio; PCR= ponto de compensação respiratório; LA= limiar anaeróbio; FC= frequência cardíaca. *p<0,05 comparado com o valor basal; [†]p<0,05 comparado com grupo controle. (ANOVA dois fatores para medidas repetidas)

TABELA 6– Função pulmonar dos pacientes asmáticos antes e depois da intervenção.

Função Pulmonar	Grupo Controle (n=21)		Grupo Treinado (n=22)		Valor p
	Antes	Depois	Antes	Depois	
VEF ₁ (L)	2,0 (± 0,69)	2,0 (± 0,66)	2,1 (± 0,74)	2,1 (± 0,76)	0,66
% do predito	77,5 (± 21,1)	79,6 (± 22,4)	77,7 (± 22,1)	78,6 (± 23,2)	0,41
CVF (L)	2,8 (± 0,88)	2,8 (± 0,87)	2,9 (± 0,85)	2,9 (± 0,77)	0,64
% do predito	89,5 (± 21,0)	90,4 (± 19,1)	90,0 (± 20,4)	92,1 (± 19,2)	0,17
VEF ₁ /CVF	0,72 (± 0,10)	0,73 (± 0,11)	0,73 (± 0,10)	0,72 (± 0,11)	0,84
FEF _{25-75%} (L.s ⁻¹)	1,56 (± 0,77)	1,66 (± 0,89)	1,72 (± 0,93)	1,70 (± 1,05)	0,73
% do predito	46,2 (± 22,5)	48,8 (± 24,4)	46,2 (± 23,0)	45,6 (± 25,4)	0,74

Legenda: Os valores estão apresentados como média e desvio padrão (DP). *Descrição das abreviações:* VEF₁ = volume expiratório forçado no primeiro segundo; PEF = pico de fluxo expiratório; CVF = capacidade vital forçada; FEF= fluxo expiratório forçado.

5. Discussão

Os nossos resultados demonstram que os adultos com asma persistente moderada ou grave submetidos a um programa de condicionamento físico aeróbio de 12 semanas apresentam uma redução da inflamação sistêmica. Além disso, o treinamento físico foi capaz de reduzir a inflamação pulmonar nos pacientes com níveis mais elevados de eosinófilo e FeNO. Associado a estes efeitos imunorreguladores, verificamos que o condicionamento físico melhorou os fatores relacionados à qualidade de vida (FSRQV), o controle clínico e reduziu as exacerbações da asma. Estes resultados mostram que a melhora da capacidade física de pacientes asmáticos pode ter um efeito anti-inflamatório na fisiopatologia da asma e que pode ser clinicamente relevante para o tratamento clínico destes pacientes.

5.1 Efeito do condicionamento físico nos níveis de citocinas

Pelo nosso conhecimento, esta é a primeira vez que se verifica que o treinamento aeróbio é capaz de reduzir os níveis plasmáticos de mediadores pró-inflamatórios IL-6, IL-8 e MCP-1 em pacientes asmáticos. Estas citocinas participam da cascata inflamatória em diversos momentos da fisiopatologia da asma tais como a migração e ativação celular, a liberação de outros mediadores e remodelamento das vias aéreas (Barnes, 2008). A IL-6 tem sido considerada um marcador sistêmico de inflamação e na asma promove um ambiente pró-inflamatório em que são suprimidas as respostas das Treg e favorece o remodelamento das vias aéreas (Bettelli et al., 2006, Mangan et al., 2006., Acosta-Rodriguez et al., 2007). Os mastócitos, eosinófilos e também células epiteliais brônquicas aumentam a expressão de IL-6 em pacientes com asma (Hamid et al., 1992; Marini et al. 1992; Bradding et al., 1994; Stadnyk., 1994).

A IL-8 pode evocar a migração de neutrófilos, monócitos, e eosinófilos já ativados pelas citocinas Th2 e estimular a degranulação (Schroder et al., 1987; Kunkel

et al., 1991; Shute, 1994; Djukanovic, 2000). A IL-8 também induz a mobilização de cálcio (Ca^{2+}) para a contração e migração de células musculares lisas da via aérea, o que pode contribuir para a obstrução, a hiperresponsividade brônquica e o remodelamento das vias aéreas (Govindaraju et al., 2006). A proteína MCP-1 está envolvida na cadeia de eventos inflamatórios que promovem o remodelamento das vias respiratórias na asma por estimular a liberação de TGF-beta pelos macrófagos e fibroblastos (Smith et al., 1996; Hohabooan et al., 1999) e promover a fibrose das vias aéreas. Adicionalmente, a MCP-1 aumenta a diferenciação das células Th2 e ativa os mastócitos que provocam a liberação de histamina, leucotrienos, fator de ativação de plaquetas e várias proteases que diretamente alteram hiperresponsividade brônquica (Campbell et al., 1999; Gu et al., 2000; Conti et al., 2001).

Níveis elevados de IL-6, IL-8 e MCP-1 têm sido observados tanto no escarro, quanto no plasma de pacientes asmáticos (Yokoyama et al, 1995; Shute et al., 1997; Daldegan et al., 2005; Wood et al, 2012) e estão negativamente associados com a função pulmonar e a hiperresponsividade brônquica (Dixon et al., 2008; Schneider et al., 2013; Morjaria et al., 2011; Grubek-Jaworska et al., 2012) e positivamente associados com inflamação das vias aéreas (Yokoyama et al, 1995; Wood et al, 2012). Além disso, pacientes asmáticos com níveis plasmáticos elevados de PCR e IL-6 tem maior IMC, pior função pulmonar e maior neutrofilia no escarro induzido (Fu et al., 2013). Silvestri et al., (2006) identificou que os pacientes com asma grave tinham níveis plasmáticos de TNF-alfa e IL-8 aumentado comparado aos pacientes com asma leve e controles saudáveis. Os autores também verificaram que os níveis de TNF estavam diretamente associados com FeNO e que os níveis de IL-8 estava inversamente associado com o VEF₁. Adicionalmente, o aumento dos níveis de IL-8 e MCP-1 no escarro parece preceder a exacerbação da asma (Kurashima et al., 1996). Assim, a

redução das citocinas IL-6, IL-8 e MCP-1 com o treinamento físico pode ter papel relevante na fisiopatologia na asma.

Os nossos resultados encontram subsídios em estudos que avaliaram o efeito do exercício em modelos experimentais de asma e verificaram uma redução da expressão da proteína MCP-1 (Vieira et al., 2007). No entanto, diferente do resultado destes estudos, não observamos redução na expressão de citocinas alérgicas IL-5 e nem o aumento da citocina regulatória IL-10 (Vieira et al., 2007; Silva et al., 2010). Por outro lado, os nossos resultados são compatíveis com estudos em humanos mostrando que o exercício físico ocasiona a redução de IL-6, IL-8 e MCP-1 no plasma de pacientes com doenças cardiovasculares ou síndrome metabólica (Trøseid et al., 2004; Goldhammer et al., 2005). Estas doenças são caracterizadas por uma inflamação Th1 ao contrário da inflamação alérgica na asma que é, predominantemente, Th2. Dessa forma, entendemos que os nossos resultados são inéditos e relevantes para a melhor compreensão do efeito do anti-inflamatório do exercício na asma.

5.2 Efeito agudo do exercício nos níveis de citocinas

Tipicamente, a IL-6 é a primeira citocina liberada para a circulação durante o exercício e seus níveis aumentam de forma exponencial em resposta ao exercício e diminuem durante o período pós-exercício retornando aos níveis basais dentro uma hora. Os níveis circulantes das citocinas anti-inflamatórias IL-1ra e IL-10 também aumentam após o exercício e a sua elevação parece ser consequência do aumento de IL-6 (Pedersen & Edward 2009). Elevações de IL-8 com o exercício agudo também têm sido observadas e o seu retorno aos níveis basais é gradual e depende da intensidade e duração do exercício realizado (Ostrowski et al., 2001; Niemen 2001; Suzuki et al. 2003). Este padrão de resposta das citocinas ao exercício tem sido amplamente

reconhecido por ter papel anti-inflamatório, uma vez que a elevação de IL-10 reduz a inflamação induzida por danos nos tecidos e IL-1ra inibe as ações pró-inflamatórias de IL-1 β (Freeman e Buchman., 2001; Moore et al., 2001). Em nossos pacientes asmáticos, verificamos um aumento de IL-6 com retorno ao seu valor basal após 1 hora de exercício e uma elevação e manutenção nos níveis de IL-10 mesmo após 1 hora de exercício, portanto muito similar ao previamente descrito em indivíduos saudáveis e com outras doenças.

Em nosso estudo, verificamos também que, agudamente, o exercício elevou os níveis de IL-8 e IL-5 retornando aos valores basais após uma hora do término do exercício. A elevação dos níveis de IL-8 com o exercício parece ter origem nos miócitos e desempenha um papel como fator de angiogênese local (De Rossi., 2000; Nielsen e Pedersen, 2007), e sistêmico como quimiotático de neutrófilos. Já a IL-5 é uma citocina que pode ser liberada por várias células inflamatórias e pelos linfócitos Th2 e que estimula a proliferação, diferenciação, sobrevivência e ativação de eosinófilos na medula óssea (Barnes, 2008). Assim, podemos considerar que o aumento dos níveis circulatórios de IL-8 e IL-5 está associado com uma resposta pró-inflamatória desencadeada pelo exercício, mas que tem um caráter transitório.

Diferente dos pacientes asmáticos os sujeitos saudáveis não tiveram alterações nos níveis plasmáticos para nenhuma citocina com o exercício agudo. Dois motivos interdependentes podem explicar este resultado: 1) o sujeitos saudáveis têm melhor condicionamento físico e 2) o exercício não foi suficientemente estressante para induzir a produção das citocinas. Deve notar-se que os aumentos das citocinas são dependentes do condicionamento físico, da intensidade, duração e da massa muscular recrutada durante o exercício (Fischer, 2006).

5.3 Efeito do condicionamento físico nos níveis de cortisol e imunoglobulina E

A imunoglobulina E (IgE) tem um papel chave na patofisiologia da asma e contribui tanto para a cascata inflamatória imediata e tardia. O efeito do exercício na IgE total tem sido frequentemente estudado em modelos experimentais de asma (Pastva et al., 2004; Vieira et al., 2007; Silva et al., 2010) e todos mostram não haver efeito do treinamento físico sobre IgE total. Em humanos conhecemos apenas o estudo de Moreira et al., (2008) que verificou redução de IgE total e específico para ácaros, após um programa de treino aeróbio em crianças asmáticas. Devido a não alteração das outras variáveis inflamatórias estudadas, os autores sugerem que esta redução pode ter ocorrida por alterações sazonais ou que representam apenas um efeito aleatório. Nosso resultados corroboram com estes resultado indicando que o efeito anti-inflamatório do exercício parece não ser mediado pela redução de IgE total.

O cortisol, a principal forma de glicocorticoide em seres humanos, é um hormônio catabólico produzido em resposta ao estresse físico e psicológico e secretado a partir do córtex supra-renal. O exercício é classificado como um estresse para o corpo humano e pode influenciar a produção de cortisol aguda e cronicamente (Hackney, 2006). A resposta ao exercício agudo é bem definida e caracterizada por um aumento transitório e diminuição dentro de 120 minutos após o final do exercício (Duclos et al., 2007). O efeito crônico do exercício é muito menos conhecido e parece depender da modalidade de treino (ex: aeróbio e resistido), intensidade, duração, gênero, idade e presença de morbidades (Kivilighan et al., 2005; Hackney et al., 2006; Moraes et al., 2012). A hipótese mais aceita é que, cronicamente, o exercício diminui os valores basais de cortisol ou a liberação do cortisol frente a um estresse (Duclos et al., 2007). O exercício cronicamente pode atenuar a resposta e sensibilidade ao estresse devido ao aumento no número de receptores para cortisol no tecido alvo e melhora na sensibilidade destes

receptores (Hackney et al., 2006). Os nossos resultados indicam que o treinamento físico aeróbio não alterou os níveis basais de cortisol e sugerimos que isto pode ter ocorrido pelos baixos níveis iniciais de cortisol apresentado pelos pacientes asmáticos comparado com o grupo de saudáveis. Estes valores basais reduzidos podem ser explicados pela supressão do cortisol com o uso crônico de corticosteróide inalatório, intravenoso ou oral (Wlodarczyk et al., 2008; Allen, 2013). De maneira interessante verificamos que houve uma redução do cortisol no GC e isto pode estar relacionado a maior frequência de exacerbações e, conseqüente, maior uso de corticosteróide oral e venoso pelos pacientes do GC.

5.4 Efeito do condicionamento físico na inflamação pulmonar

O presente estudo mostrou que apenas os pacientes que apresentam níveis elevados da fração exalada de óxido nítrico (FeNO) tiveram sua redução após o treinamento aeróbio. Existem poucos estudos avaliando o efeito do exercício na inflamação pulmonar com metodologias empregadas distintas e resultados controversos. Moreira et al. (2008) e Bonsignore et al. (2008) não observaram efeito do treinamento físico na FeNO de crianças com asma leve, enquanto Mendes et al. (2011) e Gonçalves et al. (2008) verificaram que 3 meses de treinamento aeróbio em adultos asmáticos reduziu a FeNO. A divergência dos resultados destes estudos pode ter ocorrido devido às características distintas das populações estudadas como a gravidade da asma, faixa etária e níveis basais de FeNO. Neste sentido, Moreira et al. (2008) e Bonsignore et al. (2008) estudaram crianças com asma leve a moderada e Mendes et al., (2011) e Gonçalves et al. (2008) avaliaram adultos com asma moderada a grave. Apesar da origem dos nossos pacientes ser a mesma dos estudos previamente citados, observamos que os níveis basais de FeNO do presente estudo foram menores comparado aos estudos

prévios (Mendes et al., 2011; Gonçalves et al. 2008). Enquanto a média da FeNO de Gonçalves (2008) foi de 35,3 ppb e Mendes et al., (2011) de 31,7 ppb os pacientes atuais apresentaram uma média de 26,5 ppb. Valores menores de FeNO basais podem minimizar o efeito do treinamento físico, já que a redução da FeNO é diretamente proporcional ao seu valor inicial (Mendes et al., 2011). De fato, quando analisamos apenas os pacientes com níveis mais elevados de FeNO (>26ppb) a melhora foi muito similar ao estudo de Mendes et al. (2011) e Gonçalves et al., (2008) (respectivamente, 10,3 vs. 9,0 e 9,4 ppb)

Outra maneira reconhecida para avaliar a inflamação pulmonar em pacientes asmáticos é através da celularidade do escarro induzido. Até o presente momento, apenas 2 estudos (Mendes et al., 2011; e Scott et al., 2013) avaliaram o efeito do treinamento físico na celularidade do escarro induzido e ambos verificaram redução da inflamação pulmonar. Diferentemente destes estudos, não verificamos alteração na celularidade do escarro quando analisamos todos os pacientes. Porém, ao fazer a análise do subgrupo de pacientes com maior inflamação pulmonar (eosinófilos > 3%), verificamos uma redução na porcentagem de eosinófilos apenas no GT. A discrepância quanto à redução dos eosinófilos do presente estudo comparada a Mendes et al., (2011) pode ter ocorrido devido ao valor basal da celularidade. Os pacientes do estudo de Mendes et al., (2011) tinham uma porcentagem média de eosinófilos maior (respectivamente, 14,4% vs 5,1%) que pode ser consequência de 2 fatores: os pacientes terem aumentado a gravidade e apresentarem uma inflamação mais neutrofílica ou por ter ocorrido uma melhora do tratamento clínico do pacientes. Os nossos dados mostram que a inflamação neutrofílica entre os dados atuais e os previamente publicados são muito similares (37,8% vs. 40,5%). Assim, acreditamos que esta menor inflamação eosinofílica possa ser consequente de uma melhora do tratamento clínico. Apesar dos

resultados parecem divergentes, acreditamos que eles não o sejam, visto que Mendes et al., (2011) demonstraram que a redução da eosinofilia no escarro decorrente do treinamento físico está diretamente associado ao seu valor inicial. Assim, verificamos que o exercício reduziu a inflamação eosinofílica nos pacientes com maior inflamação pulmonar destas células, confirmando os nossos estudos anteriores (Mendes et al., 2011).

É relevante destacar que os pacientes dos dois grupos estavam sob tratamento clínico-medicamentoso ao início da intervenção e que não houve mudança nas doses de medicação ao longo de todo o estudo. Assim, com base em nossos dados e na literatura vigente sugerimos que o treinamento aeróbio é capaz de reduzir a inflamação pulmonar em pacientes asmáticos, principalmente naqueles que mantem níveis inflamatórios elevados mesmo com tratamento clínico-medicamentoso.

5.5 Efeito do condicionamento físico no controle clínico

Após a intervenção, apenas os pacientes do GT tiveram uma melhora do controle clínico evidenciado pelo aumento dos dias sem sintomas de asma e redução do número de exacerbações. O controle clínico avaliado pelo *Asthma Control questionnaire 6 e 7* (ACQ-6 e ACQ-7) melhorou após o treinamento aeróbio apenas nos pacientes que tinham asma parcialmente ou não controlada (ACQ > 0,75). Existem poucos estudos avaliando o efeito do exercício físico no controle clínico de pacientes asmáticos (Mendes et al., 2010 e 2011; Dogra et al., 2011, Turner et al., 2011) e os resultados destes estudos podem ser considerados controversos dependendo das ferramentas utilizado e critérios de inclusão dos pacientes. Estudos prévios do nosso grupo observaram um aumento similar dos dias livres de sintomas nos pacientes que participaram do treinamento aeróbio utilizando o mesmo diário de sintomas (Mendes et

al 2010 e 2011, Gonçalves et al., 2008). Enquanto isso, Dogra (2011) estudou o efeito do treinamento apenas em asmáticos que tinham a doença parcialmente controlada ($ACQ > 0,75$) e verificou melhora do controle clínico ao utilizar o questionário ACQ-6 (ACQ-7 sem a questão de função pulmonar). Porém, os autores não observaram melhora utilizando o questionário completo ACQ-7. Turner et al., (2011) que estudaram idosos asmáticos e utilizaram o ACQ-7 também não verificaram mudança no controle clínico dos pacientes asmáticos submetidos ao treinamento físico. No entanto, o desfecho primário do estudo foi os FSRQV e foram inclusos somente os pacientes com limitação nas atividades de vida diária mensurado pelo *Asthma quality of life questionnaire (AQLQ)*. Em nosso estudo, não restringimos os critérios de inclusão segundo esta variável e 28% de nossa amostra (12 pacientes) apresentaram asma totalmente controlada o que pode minimizar o efeito treinamento e justifica a realização de uma análise com o subgrupo de pacientes com asma parcialmente ou não controlada.

Para se estabelecer o controle ideal da asma, as diretrizes para o tratamento da doença identificam como um componente de grande importância a prevenção das exacerbações (GINA, 2011). Alguns autores argumentam que a exacerbação é a variável mais importante, porque constitui o maior risco para os pacientes, são um motivo de ansiedade para os pacientes e suas famílias, resultam em maior pressão sobre os profissionais da saúde, além de gerar o maior custo para o sistema de saúde (Lane et al., 2006). As exacerbações são reconhecidas como uma manifestação clínica comum em pacientes com asma grave e são conhecidos por aumentar o risco de mortalidade por asma (Jorgensen et al., 2003). Surpreendentemente, apenas durante os últimos 10 anos as exacerbações têm sido usadas como uma variável primária na investigação sobre eficácia de drogas no tratamento da asma (Pauwels et al., 1997; Reddel et al., 2009). Com relação ao papel do exercício nas exacerbações da asma, os resultados ainda são

incipientes. Um estudo longitudinal com 2818 mulheres asmáticas verificou que a atividade física regular estava associada com menor risco de exacerbação da asma (Garcia-Aymerich et al., 2009). Mendes et al., (2011) em um estudo controlado e randomizado verificou redução das exacerbações e visitas ao pronto atendimento nos pacientes que participaram do treinamento aeróbio. Bonsignore et al., (2008) também verificou redução das exacerbações em crianças asmáticas leves após treinamento aeróbio. Os nossos resultados em concordância com estes dados reforçam a importância do exercício regular para reduzir as exacerbações em pacientes asmáticos.

5.6 Efeito do condicionamento físico nos FSRQV

Após a intervenção apenas os pacientes do GT apresentaram melhora nos domínios limitações de atividades, função emocional bem como do escore total do questionário de qualidade de vida, porém não foi observada alteração no domínio estímulo ambiental e sintomas ($p>0,05$; Tabela 5). Apesar de a análise dos FSRQV não constar no projeto inicial, sua inclusão nos pareceu relevante por 2 motivos: 1) avaliar uma associação entre a melhora clínica e inflamatória com a qualidade de vida; e, 2) aumentar o nível de evidências sobre o papel do exercício nos FSRQV em pacientes asmáticos.

Recentemente, surgiram boas evidências mostrando os benefícios do treinamento físico nos FSRQV de adultos asmáticos. Mendes et al., (2010) realizaram um estudo controlado e aleatorizado com 101 asmáticos e verificaram que o treinamento aeróbio melhorou a qualidade de vida e reduziu níveis de ansiedade e depressão. Estes resultados foram similares aos obtidos por Gonçalves et al., (2008) utilizando a mesma ferramenta. Turner et al., (2011) utilizaram o *Asthma Quality of Life Questionnaire (AQLQ)* observaram melhora na qualidade de vida após 6 semanas de treinamento físico

em uma população de idosos asmáticos. Dogra et al., (2011) observaram melhora do AQLQ após um programa supervisionado de 12 semanas de treinamento em adultos asmático. No presente estudo, usamos também o AQLQ o que facilita a comparação dos resultados. Inicialmente, os nossos pacientes parecem ter uma pior qualidade de vida quando comparados aos pacientes do estudo de Turner (2011) (4,4 vs. 5,0 pontos, respectivamente) e de Dogra et al., (4,4 vs. 5,4. pontos respectivamente). Apesar da diferença parecer pequena (0,6 pontos e 1,0 ponto) ela é clinicamente relevante ($>0,5$ ponto). Por outro lado, a melhora com o treinamento físico obtida em nosso estudo foi similar aos estudos de Turner et al., (2011) e de Dogra et al., (2011) (respectivamente, 0,8, 0,8 e 1,0 ponto), confirmando a importância do exercício regular para melhorar os FSRQV em pacientes asmáticos que estão em tratamento clínico-medicamentoso.

5.7 Limitações

Algumas limitações devem ser notadas em nosso estudo. Primeiramente, devido à rigidez dos critérios de inclusão, houve uma grande exclusão de pacientes, embora entendamos que isto tenha sido necessário devido, principalmente, à redução da variabilidade dos resultados das análises biológicas. Assim, estudamos apenas 9% (43 de 464) dos pacientes triados para estudo (Figura 1) o que dificulta a generalização (validação externa) dos nossos achados para toda população de pacientes com asma persistente moderada ou grave. Em segundo lugar, apesar dos 2 grupos estudados terem completado as 24 sessões de intervenção e terem recebido o mesmo programa educacional, eles não foram expostos a uma quantidade similar de atenção durante cada intervenção (30 min no GC vs. 60 min no GT). No entanto, o desenho experimental do nosso estudo apresenta uma expressiva melhora sobre os previamente descritos na literatura onde o grupo controle recebe apenas os “cuidados habituais” ou ficam na “fila

de espera” . A introdução dos exercícios respiratórios para o GC em nosso estudo teve o intuito de promover, pelo menos, o mesmo número de visitas ao hospital e assim evitar uma desigualdade no acompanhamento dos pacientes e este desenho experimental tem sido aceito na literatura (Mendes et al, 2010 e 2011). Nas análise estatísticas realizadas com os subgrupos de pacientes (ex: controle clínico, FeNO e eosinófilo) devido ao menor número amostral podemos recorrer no erro estatístico tipo I. No entanto, consideramos esta análise importante para identificar aqueles pacientes que respondem ao treinamento físico e isto pode ser relevante para estabelecer os próximos estudos nesta população.

6. Conclusão

Os nossos resultados demonstram que adultos com asma persistente moderada ou grave submetidos a um programa de condicionamento físico aeróbio apresentam uma redução da inflamação plasmática e pulmonar, redução dos sintomas, melhora dos fatores relacionados à qualidade de vida (FSRQV) e aumento do condicionamento físico. Estes resultados mostram que a melhora da capacidade física de pacientes asmáticos pode ter um efeito anti-inflamatório e que pode ser relevante para o manejo clínico destes pacientes.

8. Referências

- Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17 producing human T helper cells. *Nat immunol.* 2007;8(9):942-9.
- Adams RJ, Wilson DH, Taylor AW, Daly A, Tursan d'Espaignet E, Dal Grande E, Ruffin RE. Psychological factors and asthma quality of life: a population based study. *Thorax.* 2004;59(11):930-5.
- Allen A. The Relationship Between Fluticasone Furoate Systemic Exposure and Cortisol Suppression. *Clin Pharmacokinet.* 2013 May 30.
- American Thoracic Society – European Respiratory Society. ATS/ERS Task Force: Standardisation of Lung Function Testing. *Eur Respir J.* 2005;26(12):319-38.
- Andreacci JL, LeMura LM, Cohen SL. The effects of frequency of encouragement on performance during maximal exercise testing. *J Sports Sci.* 2002;20(4):345-52.
- ATS/ERS Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(8):912-30.
- Baines KJ, Simpson JL, Wood LG, Scott RJ, Gibson PG. Systemic upregulation of neutrophil α -defensins and serine proteases in neutrophilic asthma. *Thorax.* 2011;66(11):942-7.
- Barnes PJ. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest.* 2008;118(11):3546-56.
- Ben Ounis O, Elloumi M, Lac G, Makni E, Van Praagh E, Zouhal H, Tabka Z, Amri M. Two-month effects of individualized exercise training with or without caloric restriction on plasma adipocytokine levels in obese female adolescents. *Ann Endocrinol. (Paris)* 2009;70(4):235-41.
- Bergmann M, Gornikiewicz A, Sautner T, Waldmann E, Weber T, Mittlböck M, Roth E, Függer R. Attenuation of catecholamine-induced immunosuppression in whole blood from patients with sepsis. *Shock.* 1999;12(6):421-7.
- Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* 2006;441(7090):235-8.
- Beuther DA, Sutherland ER. Overweight, obesity, and incident asthma: a meta-analysis of prospective epidemiologic studies. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175(7):661-6.
- Bisset LR, Schmid-Grendelmeier P. Chemokines and their receptors in the pathogenesis of allergic asthma: progress and perspective. *Curr Opin Pulm Med.* 2005;11(1):35-42.
- Bonsignore MR, La Grutta S, Cibella F, Scichilone N, Cuttitta G, Interrante A, Marchese M, Veca M, Virzi' M, Bonanno A, Profita M, Morici G. Effects of exercise training and montelukast in children with mild asthma. [Med Sci Sports Exerc.](#) 2008;40(3):405-12.

- Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc.* 1982;14(5):377-81.
- Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Simony-Lafontaine J, Godard P, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med.* 1990;323(15):1033-9.
- Bradding P, J. A. Roberts, K. M. Britten, S. Montefort, R. Djukanovic, R. Muller, C. H. Heusser, P. H. Howarth, and S. T. Holgate. 1994. Interleukin- 4, -5, and -6 and tumor necrosis factor in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 10:471–480.
- Bremmer MA, Beekman AT, Deeg DJ, Penninx BW, Dik MG, Hack CE, Hoogendijk WJ. Inflammatory markers in late-life depression: Results from a population-based study. *J Affect Disord.* 2008;106(3):249-55.
- Broide DH, Lawrence T, Doherty T, Cho JY, Miller M, McElwain K, McElwain S, Karin M. Allergen-induced peribronchial fibrosis and mucus production mediated by IkappaB kinase beta-dependent genes in airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102(49):17723-8.
- Bush A, Busst CM, Johnson S, Denison DM. Rebreathing method for the simultaneous measurement of oxygen consumption and effective pulmonary blood flow during exercise. *Thorax.* 1988;43(4):268-75.
- Cai Y, Carty K, Henry RI, Gibson PG. Persistence of sputum eosinophilia in children with controlled asthma when compared with healthy children. *Eur Respir J.* 1998;11: 848-53.
- Camargo CA Jr, Weiss ST, Zhang S, Willett WC, Speizer FE. Prospective study of body mass index, weight change, and risk of adult-onset asthma in women. *Arch Intern Med.* 1999;159(21):2582-8.
- Campbell EM, Charo IF, Kunkel SL, Strieter RM, Boring L, Gosling J, Lukacs NW: Monocyte chemoattractant protein-1 mediates cockroach allergen-induced bronchial hyperreactivity in normal but not CCR2^{-/-} mice: the role of mast cells. *J Immunol* 1999, 163:2160–2167.
- Caramori G, Papi A. Oxidants and asthma. *Thorax.* 2004;59(2);170-3.
- Castro-Rodríguez JA. Relationship between obesity and asthma. *Arch Bronconeumol.* 2007;43(3):171-5.
- Chandratilleke MG, Carson KV, Picot J, Brinn MP, Esterman AJ, Smith BJ. Physical training for asthma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;5:CD001116.
- Chung KF, Barnes PJ. Cytokines in asthma. *Thorax.* 1999;54(9):825-57.
- Clark C, Cochrane L. Assessment of work performance in asthma for determination of cardiorespiratory fitness and training capacity. *Thorax.* 1988;43(10):745-9.
- Conti P, DiGiacchino M. MCP-1 and RANTES are mediators of acute and chronic inflammation. *Allergy Asthma Proc.* 2001;22(3):133-7.
- Cooper, K. *The new aerobics.* New York: Evans and Company, 1970.
- Cupps, TR, Fauci AS. Corticosteroid-mediated immunoregulation in man. *Immunol*

Rev. 1982;65:133-55.

- Daldegan MB, Teixeira MM, Talvani A. Concentration of CCL11, CXCL8 and TNF-alpha in sputum and plasma of patients undergoing asthma or chronic obstructive pulmonary disease exacerbation. *Braz J Med Biol Res.* 2005;38(9):1359-65.
- De Rossi M, Bernasconi P, Baggi F, de Waal Malefyt R, Mantegazza R. Cytokines and chemokines are both expressed by human myoblasts: possible relevance for the immune pathogenesis of muscle inflammation. *Int Immunol.* 2000;12(9):1329-35.
- Dixon AE, Raymond DM, Suratt BT, Bourassa LM, Irvin CG. Lower airway disease in asthmatics with and without rhinitis. *Lung.* 2008;186(6):361-8.
- Djukanovic R. Asthma: a disease of inflammation and repair. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105;S522–S6.
- Dogra S, Kuk JL, Baker J, Jamnik V. Exercise is associated with improved asthma control in adults. *Eur Respir J.* 2011;37(2):318-23.
- Dogra S, Meisner BA, Baker J. Psychosocial predictors of physical activity in older aged asthmatics. *Age Ageing.* 2008;37(4):449-54.
- Duclos M, Guinot M, Le Bouc Y. Cortisol and GH: odd and controversial ideas. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007 Oct;32(5):895-903.
- Eijkemans M, Mommers M, Draaisma JM, Thijs C, Prins MH. Physical activity and asthma: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7(12)
- Fahy JA, Liu J, Wong H, Boushey HA. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *Am Rev Respir Dis.* 1993;147:1126-31.
- Fanelli A, Cabral ALB, Neder JA, Martins MA, Carvalho CRF. Exercise training on disease control and quality of life in asthmatic children. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39:1474-80.
- Festa A, D'Agostino R Jr, Williams K, Karter AJ, Mayer-Davis EJ, Tracy RP, Haffner SM. The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25(10):1407-15.
- Fireman P. Understanding asthma pathophysiology. *Allergy Asthma Proc* 2003; 24(2):79–83.
- Ford ES. Asthma, body mass index, and C-reactive protein among US adults. *J Asthma.* 2003;40(7):733-9.
- Freeman BD, Buchman TG. Interleukin-1 receptor antagonist as therapy for inflammatory disorders. *Expert Opin Biol Ther.* 2001;1(2):301-8.
- Fu JJ, Baines KJ, Wood LG, Gibson PG. Systemic inflammation is associated with differential gene expression and airway neutrophilia in asthma. *OMICS.* 2013 Apr;17(4):187-99.
- Garcia-Aymerich J, Varraso R, Antó JM, Camargo CA Jr. Prospective Study of Physical Activity and Risk of Asthma Exacerbations in Older Women. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179(11):999-1003.

- Gaskill SE, Ruby BC, Walker AJ, Sanchez OA, Serfass RC, Leon AS. Validity and reliability of combining three methods to determine ventilatory threshold. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;**33**(11):1841-8.
- Girdhar A, Kumar V, Singh A, Menon B, Vijayan VK. Systemic inflammation and its response to treatment in patients with asthma. *Respir Care.* 2011;**56**(6):800-5.
- Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;**11**(9):607-15.
- Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol.* 2007;**103**(2):693-9.
- Global Initiative for Asthma (GINA) web site [on-line]: Global Strategy for Asthma Management and Prevention. National Institutes of health / National Heart, Lung and Blood Institute of Health. (updated 2009); [citado Jan. 2011]. Disponível em: <http://ginasthma.org>.
- Goldhammer E, Tanchilevitch A, Maor I, Beniamini Y, Rosenschein U, Sagiv M. Exercise training modulates cytokines activity in coronary heart disease patients. *Int J Cardiol.* 2005;**100**(1):93-9.
- Goldney RD, Ruffin R, Fisher LJ, Wilson DH. Asthma symptoms associated with depression and lower quality of life: a population survey. *Med J Aust.* 2003;**178**(9):437-41.
- Gonçalves RC, Nunes MDPT, Cukier A, et al. Efeito de um programa de condicionamento físico aeróbico nos aspectos psicossociais, na qualidade de vida, nos sintomas e no óxido nítrico exalado de portadores de asma persistente moderado ou grave. *Rev Bras Fisioter.* 2008;**12**:127-35.
- Govindaraju V, Michoud MC, Al-Chalabi M, Ferraro P, Powell WS, Martin JG. Interleukin-8: novel roles in human airway smooth muscle cell contraction and migration. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;**291**(5):C957-65.
- Grubek-Jaworska H, Paplińska M, Hermanowicz-Salamon J, Białek-Gosk K, Dąbrowska M, Grabczak E, Domagała-Kulawik J, Stepień J, Chazan R. IL-6 and IL-13 in induced sputum of COPD and asthma patients: correlation with respiratory tests. *Respiration.* 2012;**84**(2):101-7.
- Gu L, Tseng S, Horner RM, Tam C, Loda M, Rollins BJ. Control of TH2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature.* 2000;**404**(6776):407-11.
- Hackney AC. Stress and the neuroendocrine system: the role of exercise as a stressor and modifier of stress. *Expert Rev Endocrinol Metab.* 2006 Nov;**1**(6):783-792.
- Haffner SM. The metabolic syndrome: inflammation, diabetes mellitus, and cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 2006;**97**(2A):3A-11A.
- Hamid, Q., J. Barkans, Q. Meng, S. Ying, J. S. Abrams, A. B. Kay, and R. Moqbel. 1992. Human eosinophils synthesize and secrete interleukin- 6, in vitro. *Blood* 80:1496 1501.
- Handschin C, Spiegelman BM. The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease. *Nature.* 2008;**454**(7203):463–9.

- Higashimoto Y, Yamagata Y, Taya S, Iwata T, Okada M, Ishiguchi T, Sato H, Itoh H. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease and asthma: similarities and differences. *Respirology*. 2008;13(1):128-33.
- Hoene M, Weigert C. The role of interleukin-6 in insulin resistance, body fat distribution and energy balance. *Obes Rev*. 2008;9(1):20-9.
- Hogaboam CM, Bone-Larson CL, Lipinski S, Lukacs NW, Chensue SW, Strieter RM, Kunkel SL. Differential monocyte chemoattractant protein-1 and chemokine receptor 2 expression by murine lung fibroblasts derived from Th1- and Th2-type pulmonary granuloma models. *J Immunol*. 1999;163(4):2193-201.
- Holgate ST, Polosa R. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(3):218-30.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993;259:87-91.
- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444(7121):860-7.
- Huovinen E, Kaprio J, Koskenvuo M. Factors associated to lifestyle and risk of adult onset asthma. *Respir Med*. 2003;97(3):273-80.
- Huovinen E, Kaprio J, Laitinen LA and Koskenvuo M. Social predictors of adult asthma: a co-twin case-control study. *Thorax*. 2001;56(3):234-6.
- Jartti T. Asthma, asthma medication and autonomic nervous system dysfunction. *Clin Physiol*. 2001;21(2):260-9.
- Jorgensen IM, Jensen VB, Bulow S, Dahm TL, Prahl P, Juel K. Asthma mortality in the Danish child population: risk factors and causes of asthma death. *Pediatr Pulmonol*. 2003;36(2):142-7.
- Juniper EF, Bousquet J, Abetz L, Bateman E, GOAL Committee. Identifying 'well-controlled' and 'not well-controlled' asthma using the Asthma Control Questionnaire. *Respir Med*. 2006;100(4):616-21.
- Juniper EF, O'Byrne PM, Guyatt GH, Ferrie PJ, King DR. Development and validation of a questionnaire to measure asthma control. *Eur Respir J*. 1999;14(4):902-7.
- Juniper EF, Svensson K, Mork AC, Stahl E. Measurement properties and interpretation of three shortened versions of the asthma control questionnaire. *Respir Med*. 2005;99(5):553-8.
- Juniper EF. Health-related quality of life in asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 1999;5(2):105-10.
- Kivilighan, K.T., Granger, D.A. and Booth, A. (2005) Gender differences in testosterone and cortisol response to competition. *Psychoneuroendocrinology* 30, 58-71.
- Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows, B. Changes in the normal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am Rev Respir Dis*. 1983;127(6):725-34.

- Kony S, Zureik M, Driss F, Neukirch C, Leynaert B, Neukirch F. Association of bronchial hyperresponsiveness and lung function with C-reactive protein (CRP): a population based study. *Thorax*. 2004;59(10):892-6.
- Kunkel SL, Standiford T, Kasahara K, and Strieter RM. Interleukin-8 (IL-8): the major neutrophil chemotactic factor in the lung. *Exp Lung Res*. 1991;17(1):17-23.
- Kurashima K, Mukaida N, Fujimura M, Schroder JM, Matsuda T, Matsushima K (1996) Increase of chemokine levels in sputum precedes exacerbation of acute asthma attacks. *J Leukoc Biol* 59:313–316
- Lancaster GI, Khan Q, Drysdale P, Wallace F, Jeukendrup AE, Drayson MT, Gleeson M. The physiological regulation of Toll-like receptor expression and function in humans. *J Physiol*. 2005;563(Pt 3):945-55.
- Lane S, Molina J, Plusa T. An international observational prospective study to determine the cost of asthma exacerbations (COAX). *Respir Med*. 2006;100(3):434-50.
- Leite M, Ponte EV, Petroni J, D'Oliveira Júnior A, Pizzichini E, Cruz AA. Evaluation of the asthma control questionnaire validated for use in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2008;34(10):756-63.
- Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest*. 2007;117(5):1175-83.
- Lucas SR, Platts-Mills TA. Physical activity and exercise in asthma: relevance to etiology and treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115(5):928-34.
- Ludwick SK, Jones JW, Jones TK, Fukuhara JT, Strunk RC. Normalization of cardiopulmonary endurance in severely asthmatic children after bicycle ergometry therapy. *J Pediatr*. 1986;109(3):446-51.
- Lunardi AC, Marques da Silva CC, Rodrigues Mendes FA, Marques AP, Stelmach R, Fernandes Carvalho CR. Musculoskeletal dysfunction and pain in adults with asthma. *J Asthma*. 2011;48(1):105-10.
- Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature*. 2006;441(7090):231-4.
- Marini M, Vittori E, Hollemborg J, Mattoli S. Expression of the potent inflammatory cytokines, granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor and interleukin-6 and interleukin-8, in bronchial epithelial cells of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1992; 89: 1001-9.
- Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R, Global Initiative for Asthma (GINA) Program. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy*. 2004;59(5):469-78.
- Mathur M, Pedersen BK. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators Inflamm*. 2008;2008:109502.
- Mendes FA, Almeida FM, Cukier A, Stelmach R, Jacob-Filho W, Martins MA, Carvalho CR. Effects of aerobic training on airway inflammation in asthmatic patients. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;43(2):197-203.

- Mendes FA, Gonçalves RC, Nunes MP, Saraiva-Romanholo BM, Cukier A, Stelmach R, Jacob-Filho W, Martins MA, Carvalho CR. Effects of aerobic training on psychosocial morbidity and symptoms in patients with asthma: a randomized clinical trial. *Chest*. 2010;138(2):331-7.
- Mendes FA, Lunardi AC, Silva RA, Cukier A, Stelmach R, Martins MA, Carvalho CR. Association between maximal aerobic capacity and psychosocial factors in adults with moderate-to-severe asthma. *J Asthma*. 2013. [Epub ahead of print].
- Ministério da Saúde do Brasil. Departamento de informática do SUS [on-line]. Brasília: DATASUS [citado 25 Jan 2012]. Morbidade hospitalar do SUS - por local de internação - Brasil. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/miuf.def>.
- Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ, Elbourne D, Egger M, Altman DG. CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trial. *BMJ*. 2010;340:c869.
- Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptors. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:683-765.
- Moraes H, Deslandes A, Cevada T, Mendonça-de-Souza ACF, Laks J. o efeito do exercício físico nos níveis de cortisol em idosos: uma revisão sistemática. *Rev Bras Ativ Fis e Saúde*. 2012; 17(4):314-320.
- Moreira A, Delgado L, Haahtela T, Fonseca J, Moreira P, Lopes C, Mota J, Santos P, Ryttilä P, Castel-Branco MG. Physical training does not increase allergic inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J*. 2008;32(6):1570-5.
- Morjaria JB, Babu KS, Vijayanand P, Chauhan AJ, Davies DE, Holgate ST. Sputum IL-6 concentrations in severe asthma and its relationship with FEV1. *Thorax*. 2011;66(6):537.
- Mujumdar PP, Duerksen-Hughes PJ, Firek AF, Hessingere DA. Long-term, progressive, aerobic training increases adiponectin in middle-aged, overweight, untrained males and females. *Scand J Clin Lab Invest*. 2011;71(1):101-7.
- Neder JA, Nery LE, Silva AC, Cabral AL, Fernandes AL. Short term effects of aerobic training in the clinical management of moderate to severe asthma in children. *Thorax*. 1999;54(3):202-6.
- Nielsen AR, Pedersen BK. The biological roles of exercise-induced cytokines: IL-6, IL-8, and IL-15. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2007;32(5):833-9.
- Nieman DC, Henson DA, Smith LL, Utter AC, Vinci DM, Davis JM, Kaminsky DE, Shute M. Cytokine changes after a marathon race. *J Appl Physiol*. 2001;91(1):109-14.
- Onur E, Kabaroğlu C, Günay O, Var A, Yılmaz O, Dünder P, Tikiz C, Güvenç Y, Yüksel H. The beneficial effects of physical exercise on antioxidant status in asthmatic children. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2011;39(2):90-5.
- Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK. Chemokines are elevated in plasma after strenuous exercise in humans. *Eur J Appl Physiol*. 2001;84(3):244-5.
- Pasare C, Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science*. 2003;299(5609):1033-6.

- Pastva A, Estell K, Schoeb TR, Atkinson TP, Schwiebert LM. Aerobic exercise attenuates airway inflammatory responses in a mouse model of atopic asthma. *J Immunol*. 2004; 172(7):4520-6.
- Pauwels RA, Lofdahl CG, Postma DS, Tattersfield AE, O'Byrne P, Barnes PJ, Ullman A. Effect of inhaled formoterol and budesonide on exacerbations of asthma. Formoterol and Corticosteroids Establishing Therapy (FACET) International Study Group. *N Engl J Med*. 1997;337(20):1405-11.
- Pedersen BK, Edward F. Adolph distinguished lecture: muscle as an endocrine organ: IL-6 and other myokines. *J Appl Physiol*. 2009;107(4):1006-14.
- Pedersen BK, Toft AD. Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. *Br J Sports Med*. 2000;34(4):246-51.
- Pedersen BK. The Disease of physical inactivity-and the role of myokines in muscle-fat cross talk. *J Physiol*. 2009;587(Pt 23):5559-68.
- Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol*. 2005;98(4):1154-62.
- Pizzichini, MMM, Popov T, Efthimiadis A, Hussack P, Evans S, Pizzichini E, Dolovich J, Hargreave FE. Spontaneous and induced sputum compared to measure indices of airway inflammation in asthma. *Am J Resp Crit Care Med*. 1996;154(4 Pt 1):866-9.
- Popov TA, Pizzichini, MMM, Pizzichini E, Kolendowicz R, Punthakee Z, Dolovich J, Hargreaves FE. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis. *Eur Respir J*. 1995;8(4):559-65.
- Ram FSF, Robinson SM, Black PN, et al. Physical training for asthma (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 1, 2009.
- Reddel HK, Taylor DR, Bateman ED, Boulet LP, Boushey HA, Busse WW, Casale TB, Chanez P, Enright PL, Gibson PG, de Jongste JC, Kerstjens HA, Lazarus SC, Levy ML, O'Byrne PM, Partridge MR, Pavord ID, Sears MR, Sterk PJ, Stoloff SW, Sullivan SD, Szeffler SJ, Thomas MD, Wenzel SE, American Thoracic Society/European Respiratory Society Task Force on Asthma Control and Exacerbations. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: asthma control and exacerbations: standardizing endpoints for clinical asthma trials and clinical practice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180(1):59-99.
- Reibman J, Hsu Y, Chen LC, Bleck B, Gordon T. Airway epithelial cells release MIP-3alpha/CCL20 in response to cytokines and ambient particulate matter. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2003;28(6):648-54.
- Ross R, Bradshaw AJ. The future of obesity reduction: beyond weight loss. *Nat Rev Endocrinol*. 2009;5(6):319-25.
- Roubenoff R. Physical activity, inflammation, and muscle loss. *Nutr Rev*. 2007;65(12 Pt 2):S208-12.
- Santos-Silva PR; Fonseca AJ; Castro AW, Greve JM; Hernandez AJ. Reproducibility of maximum aerobic power (VO₂max) among soccer players using a modified heck protocol. *Clinics*. 2007; 62(2):391-6.

- Satta A. Exercise training in asthma. *J Sports Med Phys Fitness*. 2000;40(4):277-83.
- Schneider D, Hong JY, Bowman ER, Chung Y, Nagarkar DR, McHenry CL, Goldsmith AM, Bentley JK, Lewis TC, Hershenson MB. Macrophage/epithelial cell CCL2 contributes to rhinovirus-induced hyperresponsiveness and inflammation in a mouse model of allergic airways disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2013;304(3):L162-9.
- Schroder JM, Mrowietz U, Morita E, Christophers E. Purification and partial biochemical characterization of a human monocyte-derived, neutrophil-activating peptide that lacks interleukin 1 activity. *J Immunol*. 1987;139(10):3474-83.
- Scott HA, Gibson PG, Garg ML, Pretto JJ, Morgan PJ, Callister R, Wood LG. Dietary restriction and exercise improve airway inflammation and clinical outcomes in overweight and obese asthma: a randomized trial. *Clin Exp Allergy*. 2013;43(1):36-49.
- Shore SA. Obesity and asthma: lessons from animal models. *J Appl Physiol*. 2007;102(2):516-28.
- Shute J. Interleukin-8 is a potent eosinophil chemo-attractant. *Clin Exp Allergy*. 1994;24: 203-6.
- Shute JK, Vrugt B, Lindley IJ et al. Free and complexed interleukin-8 in blood and bronchial mucosa in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:1877-83.
- Silva RA, Vieira RP, Duarte ACS, Lopes FDTQS, Perini A, Mauad T, Martins MA, Carvalho CRF. Aerobic training reverses airway inflammation and remodeling in asthma murine model. *Eur Respir J*. 2010;35(5):994-1002.
- Silvestri M, Bontempelli M, Giacomelli M, Malerba M, Rossi GA, Di Stefano A, Rossi A, Ricciardolo FL. High serum levels of tumour necrosis factor-alpha and interleukin-8 in severe asthma: markers of systemic inflammation? *Clin Exp Allergy*. 2006 Nov;36(11):1373-81.
- Smith RE, Strieter RM, Phan SH, Kunkel SL. C-C chemokines: novel mediators of the profibrotic inflammatory response to bleomycin challenge. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1996;15(6):693-702.
- Sood A, Ford ES, Camargo CA Jr. Association between leptin and asthma in adults. *Thorax*. 2006;61(4):300-5.
- Stadnyk AW. Cytokine production by epithelial cells. *Faseb J*. 1994; 8: 1041-7.
- Steiner AA, Romanovsky AA. Leptin: at the crossroads of energy balance and systemic inflammation. *Prog Lipid Res*. 2007;46(2):89-107.
- Strackowski M, Dzienis-Strackowska S, Stępień A, Kowalska I, Szelachowska M, Kinalska I. Plasma interleukin-8 concentrations are increased in obese subjects and related to fat mass and tumor necrosis factor-alpha system. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(10):4602-6.
- Stumbles PA, Thomas JA, Pimm CL, Lee PT, Venaille TJ, Proksch S, Holt PG. Resting respiratory tract dendritic cells preferentially stimulate T helper cell type 2 (Th2) responses and require obligatory cytokine signals for induction of Th1 immunity. *J Exp Med*. 1998;188(11):2019-31.
- Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, Kumae T, Umeda T,

- Sugawara K. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med Sci Sports Exerc.* 2003;35(2):348-55.
- Trøseid M, Lappegård KT, Claudi T, Damås JK, Mørkrid L, Brendberg R, Mollnes TE. Exercise reduces plasma levels of the chemokines MCP-1 and IL-8 in subjects with the metabolic syndrome. *Eur Heart J.* 2004;25(4):349-55.
- Truyen E, Coteur L, Dilissen E, Overbergh L, Dupont LJ, Ceuppens JL, Bullens DM. Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. *Thorax.* 2006;61(3):202-8.
- Turner S, Eastwood P, Cook A, Jenkins S. Improvements in Symptoms and Quality of Life following Exercise Training in Older Adults with Moderate/Severe Persistent Asthma. *Respiration.* 2011;81(4):302-10.
- Varray A, Mercier J, Savy-Pacaux AM, Préfaut C. Cardiac role in exercise limitation in asthmatic subjects with special reference to disease severity. *Eur Respir J.* 1993;6(7):1011-17.
- Vieira RP, Claudino RC, Duarte ACS, Santos ABG, Perini A, Faria Neto HCC, Mauad T, Martins MA, Dolhnikoff M, Carvalho CR. Aerobic exercise decreases chronic allergic lung inflammation and airway remodeling in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176(9):871-7.
- Villa F, Castro AP, Pastorino AC, Santarém JM, Martins MA, Jacob CM, Carvalho CR. Aerobic capacity and skeletal muscle function in children with asthma. *Arch Dis Child.* 2011;96(6):554-9.
- Wlodarczyk JH, Gibson PG, Caeser M. Impact of inhaled corticosteroids on cortisol suppression in adults with asthma: a quantitative review. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2008 Jan;100(1):23-30.
- Wood LG, Baines KJ, Fu J, Scott HA, Gibson PG. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma. *Chest.* 2012
- Xu H, Uysal KT, Becherer JD, Arner P, Hotamisligil GS. Altered tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) processing in adipocytes and increased expression of transmembrane TNF-alpha in obesity. *Diabetes.* 2002;51(6):1876-83.
- Yokoyama A, Kohno N, Fujino S, Hamada H, Inoue Y, Fujioka S, Ishida S, Hiwada K. Circulating interleukin-6 levels in patients with bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151(5):1354-8.
- Yudkin JS. Inflammation, obesity, and the metabolic syndrome. *Horm Metab Res.* 2007;39(10):707-9.
- Zieker D, Zieker J, Dietzsch J, Burnet M, Northoff H, Fehrenbach E. CDNA-microarray analysis as a research tool for expression profiling in human peripheral blood following exercise. *Exerc Immunol Rev.* 2005;11:86-96.